



HAL
open science

Facteurs environnementaux de variation de l'abondance des tiques *Ixodes ricinus* dans des zones d'étude modèles en Auvergne

Chloé Boyard

► **To cite this version:**

Chloé Boyard. Facteurs environnementaux de variation de l'abondance des tiques *Ixodes ricinus* dans des zones d'étude modèles en Auvergne. Biologie animale. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2007. Français. NNT : 2007CLF21813 . tel-00930307

HAL Id: tel-00930307

<https://theses.hal.science/tel-00930307v1>

Submitted on 14 Jan 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE BLAISE PASCAL

N° D.U. : 1813

UNIVERSITE D'Auvergne

Année 2007

*ECOLE DOCTORALE
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE*

N° d'ordre : 475

Thèse

Présentée à l'Université Blaise Pascal pour l'obtention du grade de
DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : Epidémiologie

Soutenue le 18 décembre 2007
par

Chloé Boyard

Facteurs environnementaux de variation de l'abondance
des tiques *Ixodes ricinus* dans des zones d'étude
modèles en Auvergne

Jury

M. Christian AMBLARD	Membre	Université Clermont-Fd II
M. Jacques BARNOUIN	Directeur de thèse	INRA Clermont-Fd – Theix
M. Richard BONNET	Président du jury	Université Clermont-Fd I
Mme Maria DIUK-WASSER	Rapporteur	Université de Yale, USA
M. Michel PASCAL	Membre	INRA Rennes
Mme Gwenaël VOURC'H	Co-encadrante de thèse	INRA Clermont-Fd – Theix

Rapporteur externe au jury

Mme Lise GERN Université de Neuchâtel, Suisse

Encadrant de thèse externe au jury

M. Patrick GASQUI INRA Clermont-Fd – Theix

UR346 Unité d'Épidémiologie Animale
INRA Clermont-Ferrand – Theix

Remerciements

A mes encadrants

Tous trois à l'origine du projet de thèse, ils ont participé chacun à leur façon à ma formation par la recherche.

Jacques Barnouin, sympathique et humaniste, a dirigé ce travail avec une attention toute particulière, en apportant sans cesse de bonnes idées pour avancer. Il a toujours été disponible pour faire le point et résoudre les problèmes que nous avons rencontrés.

La rigueur scientifique, les conseils et les analyses pertinentes de Gwenaél Vourc'h m'ont permis de faire d'énormes progrès. Elle n'a pas compté son temps, et même séparées par l'océan Atlantique, elle a continué à suivre l'évolution de la thèse. Cette présence continue à mes côtés a énormément compté pour moi.

Patrick Gasqui, scientifique aguerri, a apporté son expérience statistique tout en me laissant la responsabilité de mes choix.

Je les remercie tous trois chaleureusement.

Aux membres du jury et rapporteurs

Sincères remerciements à Christian Amblard, Richard Bonnet, Michel Pascal, et Maria Diuk-Wasser pour m'avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail en participant au jury de thèse. Sincères remerciements également à Maria Diuk-Wasser et Lise Gern pour avoir accepté la charge de rapporteur.

Aux membres du comité de thèse

Mes remerciements vont également aux membres du comité de thèse pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail. Leurs expertises ont été précieuses à la poursuite du projet.

Lise Gern, chaleureuse et sympathique, elle est la « tiquologue » la plus pointue qu'il m'ait été donné de rencontrer. Le savoir qu'elle a accumulé au fil des années est un exemple pour moi.

Michel Pascal, son surnom en dit long... Ratator est le spécialiste incontournable et intarissable des micromammifères. Les sorties sur le terrain ont été extrêmement enrichissantes.

Serge Morand m'a permis d'élargir ma conception des relations hôtes – parasites. Ses réflexions et ses problématiques ont été sources d'inspiration.

Thierry de Meeûs, par ses remarques opportunes, a permis de recadrer certaines approches par rapport à l'objectif fixé.

Joël Chadœuf, toujours de bonne humeur, a été un soutien en modélisation.

Chacune des réunions du comité a suscité un regain d'enthousiasme.

A toutes les personnes qui ont participé à ce travail

Cette thèse est basée sur un travail de terrain qui n'aurait jamais vu le jour sans le concours d'un grand nombre de personnes qui se sont mobilisées :

Gwenaël, Ginette, Valérie et Mathieu ont commencé les investigations qui ont été poursuivies à l'aide d'Anne-Sophie et des stagiaires ou intervenants « terrain » qui se sont succédés. Ils ont tous laissé leurs marques au sein de l'unité : en 2004, Delphine, Frank, et Cécile, en 2005, Adrien, Arnaud et Alexandre, en 2006, Smail et Thomas B.

Des journées de terrains ont été également partagées par d'autres personnes de façon plus occasionnelles mais tout autant indispensable : Séverine, Myriam, Christian, David, Michelle, Fatima, Nelly, Jacques, et les stagiaires Antoine, Nicolas, Stéphanie, Emilie, Stéphanie D., Yuelai, Valérie C., Anne-Gaëlle, Fabien et Thomas G.

Les bases de données informatiques ne seraient rien sans Nelly. Les protocoles n'auraient pas été aussi efficaces sans la relecture attentive de Michelle.

Je remercie également Nelly M. pour son aide au laboratoire, David pour les formations en cartographie, Jocelyn pour l'informatique et Françoise qui trouve toujours les meilleures solutions.

Enfin, ce travail n'aurait pas été possible sans l'accord des éleveurs des Combrailles et du Cantal, qui ont fait preuve de patience et de gentillesse à notre égard et la famille Barrier qui a accueilli notre équipe pendant quatre semaines et qui a grandement facilité notre travail.

Je les remercie tous du fond du cœur pour leur professionnalisme, leur prévenance et surtout leur bonne humeur. J'ai passé en leur compagnie d'agréables moments de convivialité et d'amitié.

A tous ceux qui sont passés dans l'équipe

Un grand merci à Lénéïg « pour cette mémorable semaine de congrès à Neuchâtel », à Marie-Jo, qui a partagé les angoisses de l'après thèse, Claude, Agnès, Emilie, Amélie et Mathilde pour les ambiances des pauses café.

Aux membres de l'équipe de Neuchâtel

Olivier, Caroline, Francesca pour les quelques jours de convivialité.

Aux organismes sollicités

La Région Auvergne et le département Santé Animale de l'INRA.

Le Syndicat Mixte pour l'Aménagement et le Développement des Combrailles.

L'Etablissement Départemental de l'Elevage.

L'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage et notamment les membres de l'ONCFS de Marcillat, Francis Sery, Philippe Puissauve et Olivier Santoni pour leur collaboration.

L'INRA d'Avignon via Frédéric Huard pour les données météo.

Le service de Systématique Moléculaire du Muséum National d'Histoire Naturelle via Sarah Samadi.

L'unité Mathématique et Informatique Appliquée de l'INRA Jouy en Josas pour m'avoir permis de présenter mes travaux.

Le groupe « Tiques et maladies à tiques » du « Réseau Ecologie et Développement Durable ».

Les derniers mais non les moindres

Aux adhérents du club de tennis de table de Ceyrat pour leur soutien et leur patience, aux amis des sections vélo et badminton de l'ADAS, pour les moments partagés, à Claire pour nos exploits sportifs.

A M. et Mme Wagner pour l'aide qu'ils m'ont apporté.

A ma famille : maman et papa sans qui, il ne se serait rien passé, à David, pour avoir supporté sa grande sœur, à Vanessa pour ses thés anglais fameux, à Adèle pour être la meilleure des petites sœurs, à Damien, pour tout.

A ma famille

Dire que tout ce que vous voyez là et plus loin sur des milliers de kilomètres, les blés, les avoines, les arbres, les alignements, les perspectives et jusqu'aux touffes d'herbe, c'est l'homme, ses pensées, son cœur, ses bonnes mains !

— Marcel Aymé (Uranus).

Table des matières

LISTE DES FIGURES	14
LISTE DES TABLEAUX	16
ABREVIATIONS	17
GLOSSAIRE	18
INTRODUCTION ET OBJECTIFS	21
1^{ERE} PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	31
I BIOLOGIE DE LA TIQUE <i>IXODES RICINUS</i> EN RELATION AVEC LES AGENTS PATHOGENES TRANSMIS	33
I.1 BIOLOGIE D' <i>IXODES RICINUS</i> , ACQUISITION ET TRANSMISSION DE PATHOGENES	33
I.1.1 Classification et morphologie	33
I.1.2 Habitat	37
I.1.3 Cycle de vie	37
I.2 « L'ECOSYSTEME <i>IXODES RICINUS</i> »	46
I.2.1 <i>Ixodes ricinus</i> en tant que vecteur d'agents pathogènes	46
I.2.2 Autres germes isolés à partir d' <i>Ixodes ricinus</i>	47
I.2.3 Maladies transmises par les tiques en Auvergne	47
II PROBLEMATIQUES LIEES A L'ETUDE DE L'ABONDANCE DE LA TIQUE <i>IXODES RICINUS</i>	55
II.1 LA COLLECTE DES TIQUES	55
II.1.1 Dans l'environnement	56
II.1.2 Sur les hôtes	58
II.2 ECHELLES D'ETUDE ET FACTEURS SPATIAUX DE VARIATION	59
II.2.1 Echelle biogéographique	59
II.2.2 Echelle « régionale »	60
II.2.3 Echelle locale	62
II.3 MODELISATION DE L'ABONDANCE	63
II.3.1 Types de modèles	63
II.4 L'AGREGATION DES INDIVIDUS DE L'ESPECE <i>IXODES RICINUS</i>	67
II.4.1 Caractéristique de l'agrégation	67
II.4.2 Causes de l'agrégation	68
II.4.3 Mise en évidence et modélisation de l'agrégation	69
III CONCLUSION DE L'ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	71

I PRESENTATION GENERALE DES ETUDES ECO-EPIDEMIOLOGIQUES MENEES DANS LE CADRE DE LA THESE	75
I.1 CARACTERISTIQUES DES ZONES MODELES	75
I.1.1 Les Combrailles	76
I.1.2 L'Ouest Cantal	77
I.2 DEROULEMENT DES CAMPAGNES DE TERRAIN, SELECTION DES SITES ET DISPOSITIONS DES POINTS D'OBSERVATION	77
I.2.1 Déroulement de l'étude de l'abondance des tiques <i>Ixodes ricinus</i> sur les pâtures (collectes de 2003, 2004, 2006, et 2007) [Publications 1 et 2]	77
I.2.2 Déroulement de l'étude d' <i>Ixodes ricinus</i> à l'écotone bois-pâturation (collectes de 2005) [Publication 4]	79
I.3 DONNEES COLLECTEES	81
I.3.1 Population d'intérêt et définition des variables à expliquer	81
I.3.2 Variables potentiellement explicatives	83
I.3.3 Protocoles prospectifs en vue de l'étude de la répartition des animaux hôtes	86
I.4 TRAITEMENT DES DONNEES	88
I.4.1 Stockage des données	88
I.4.2 Sélection des variables	89
I.4.3 Choix de la loi de distribution	90
II ETUDE DES FACTEURS DE VARIATION DE L'ABONDANCE DE NYMPHES <i>IXODES RICINUS</i> EN PRAIRIE PERMANENTE PATUREE SUR DEUX ZONES MODELES EN AUVERGNE	94
II.1 STATISTIQUES DESCRIPTIVES DE LA DISTRIBUTION DES NYMPHES <i>IXODES RICINUS</i> SUR LES PATURES	94
II.2 CHOIX DU MODELE STATISTIQUE	95
II.2.1 Covariables	95
II.2.2 Etude des interactions	95
II.2.3 Ajustements	97
II.2.4 Discussion	98
II.3 CARACTERISATION DES FACTEURS DE VARIATION DE L'ABONDANCE DE NYMPHES D' <i>IXODES RICINUS</i> SUR LES PATURES	99
II.3.1 Modèle basé sur les collectes effectuées dans les Combrailles en 2003 : Publications n°1 et 2	99
II.3.2 Etude de la reproductibilité de l'effet des facteurs d'abondance des nymphes <i>I. ricinus</i> dans le temps et dans l'espace : publication n°3	117
II.4 COMPARAISON BOIS-PATURES	129
II.4.1 Comparaison des densités	129
II.4.2 Comparaison des proportions des différentes stases (Figure 24)	130
III ETUDE DE L'ABONDANCE DES TIQUES <i>IXODES RICINUS</i> A L'ECOTONE BOIS-PATURE ET ROLE DES ANIMAUX HOTES VERTEBRES	132
III.1 ACTIVITE SAISONNIERE DES TIQUES <i>IXODES RICINUS</i> DANS LES COMBRAILLES	132
III.2 ETUDE DES RELATIONS ENTRE <i>IXODES RICINUS</i> ET LES MICROMAMMIFERES A L'INTERFACE BOIS-PATURE : PUBLICATION N°4	138
III.3 ESPECES D'ANIMAUX VERTEBRES SUSCEPTIBLES D'ETRE IMPLIQUEES DANS LA CIRCULATION DES TIQUES A L'INTERFACE BOIS-PATURE : PUBLICATION N°5	163

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	169
-----------------------------------	------------

REFERENCES	179
-------------------	------------

ANNEXES	197
----------------	------------

ANNEXE 1 : SITUATION GEOGRAPHIQUE DES SITES D'ETUDE	199
--	------------

ANNEXE 2 : DONNEES 2003, 2004 ET 2006	200
--	------------

A2.I. ACQUISITION DES DONNEES	200
-------------------------------	-----

A2.II. STOCKAGE DES DONNEES	206
-----------------------------	-----

A2.III. VARIABLES POTENTIELLEMENT EXPLICATIVES	208
--	-----

ANNEXE 3 : DONNEES 2005	216
--------------------------------	------------

A3.I. ACQUISITION DES DONNEES	216
-------------------------------	-----

A3.II. STOCKAGE DES DONNEES	216
-----------------------------	-----

A3.III. VARIABLES	221
-------------------	-----

ANNEXE 4 : CODE « R »	224
------------------------------	------------

A4.I. CHOIX DE LA LOI DE DISTRIBUTION	224
---------------------------------------	-----

A4.II. ACQUISITION DES DONNEES A PARTIR D'ACCESS	227
--	-----

A4.III. REGRESSION BINOMIALE NEGATIVE APPLIQUEE AUX DONNEES DE 2004	227
---	-----

Liste des figures

Figure 1 : Décomposition schématique du risque de transmission de maladies par les tiques chez un hôte.....	23
Figure 2 : Répartition des espèces du complexe <i>Ixodes ricinus</i> responsables de la transmission de <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l., agent étiologique de la maladie de Lyme (d'après Goodman <i>et al.</i> , 2005).....	35
Figure 3 : Représentation schématique de la morphologie des adultes femelles d'Ixodina (d'après Morel).	35
Figure 4 : Les quatre stases d' <i>Ixodes ricinus</i>	36
Figure 5 : Cycle de vie d' <i>Ixodes ricinus</i> . Source J-L. Perret.....	36
Figure 6 : Voies de transmission des agents pathogènes pour la tique <i>Ixodes ricinus</i>	40
Figure 7 : Transmission d'agents pathogènes par co-repas.....	40
Figure 8 : <i>Ixodes ricinus</i> à l'affût sur la végétation.....	44
Figure 9 : Activité saisonnière d' <i>Ixodes ricinus</i> en Europe centrale, Nord de l'Angleterre et Ecosse (d'après Kurtenbach <i>et al.</i> , 2006).	45
Figure 10 : Incidence mensuelle de la maladie de Lyme dans le Puy-de-Dôme en 2004 et 2005 (d'après Beytout <i>et al.</i> , 2007).	46
Figure 11 : Collecte des tiques au drapeau.....	57
Figure 12 : Exemple de modélisation mécaniste des taux de survie d' <i>Ixodes ricinus</i> d'une stase à l'autre (d'après Randolph, 2005).	64
Figure 13 : Facteurs intervenant sur le nombre de nymphes collectées au drapeau (adapté d'après Guisan et Zimmermann, 2000).	65
Figure 14 : Situation des deux zones d'étude modèles en Auvergne.....	76
Figure 15 : Disposition des points d'observations sur la photographie aérienne d'une pâture.....	79
Figure 16 : Piège INRA® en place.....	81
Figure 17 : Importance relative (%) des stases et espèces de tiques collectées au drapeau. A) sur les pâtures ; B) dans les bois.....	82

Figure 18 : Importance relative (%) des espèces de tiques collectées sur les micromammifères toutes stases confondues en 2005.....	83
Figure 19 : Position des secteurs pour l'observation des bovins sur les pâtures.	87
Figure 20 : Représentation schématique de la réalisation d'une variable aléatoire dans l'espace suivant 4 lois de distribution.	93
Figure 21 : « Boîtes à moustache » représentant deux interactions considérées durant l'analyse des données « Combrailles 2003 ».	96
Figure 22 : Ajustements des lois de Poisson, ZIP, NB et ZINB aux nombres de nymphes par tranche (données Combrailles 2003).	97
Figure 23 : Densités de nymphes <i>I. ricinus</i> sur le périmètre intérieur des pâtures et dans les bois aux printemps 2003, 2004 et 2006. (2003 et 2004: Combrailles ; 2006: Combrailles + Ouest Cantal)	129
Figure 24 : Proportions de nymphes (ny), d'adultes mâles (adm) et d'adultes femelles (adf) <i>Ixodes ricinus</i> collectés sur le périmètre intérieur des pâtures et dans les bois en 2003, 2004 (Combrailles) et 2006 (Combrailles + Ouest Cantal). Pourcentages entre parenthèses.	131
Figure 25 : Variation temporelle des densités ou de la prévalence d' <i>Ixodes ricinus</i> sur quatre sites (étude Combrailles 2005).	134
Figure 26 : Variation saisonnière de l'activité des larves <i>Ixodes ricinus</i> sur chaque tranche examinée d'avril à novembre 2005.....	135
Figure 27 : Variation saisonnière de l'activité des nymphes <i>Ixodes ricinus</i> sur chaque tranche examinée d'avril à novembre 2005.	136
Figure 28 : Variation saisonnière de l'activité des adultes <i>Ixodes ricinus</i> sur chaque tranche examinée d'avril à novembre 2005.	137

Liste des tableaux

Tableau 1 : Tiques d'importance économique, rôle vecteur ou maladies transmises (d'après Jongejan et Uilenberg, 2005).....	26
Tableau 2 : Classification de l'espèce <i>Ixodes ricinus</i> (Camicas <i>et al.</i> , 1998).	33
Tableau 3 : Les agents pathogènes vectorisés par <i>Ixodes ricinus</i>	49
Tableau 4 : Germes de pathogénicité reconnue isolés à partir d' <i>Ixodes ricinus</i> , mais pour lesquels <i>I. ricinus</i> n'apparaît pas constituer le vecteur principal.....	52
Tableau 5 : Autres organismes isolés à partir d' <i>Ixodes ricinus</i> dont la pathogénicité pour l'Homme n'a pas été mise en évidence.	54
Tableau 6 : Groupes d'espèces végétales indicateurs de l'abondance de la tique <i>Ixodes ricinus</i> dans le Jura méridional, d'après Gilot <i>et al.</i> (1979).....	61
Tableau 7 : Exemples de références ayant recours à une modélisation probabiliste de l'abondance des tiques du complexe <i>Ixodes ricinus</i>	66
Tableau 8 : Valeurs descriptives de la distribution des nymphes <i>I. ricinus</i> sur les tranches de pâture (surfaces de 10 m ²).	94
Tableau 9 : Tests de Vuong pour la comparaison des ajustements de quatre lois de probabilité (données Combrailles 2003).	98
Tableau 10 : Résultats de la collecte des tiques <i>Ixodes ricinus</i> en 2005 sur quatre sites de la région des Combrailles.	133
Tableau 11 : Classement des zoonoses non alimentaires en maladies prioritaires, importantes et non prioritaires (d'après Capek, 2006).	171

Abréviations

ACM	Analyse de Correspondances Multiples
AVHRR	Advanced Very High Resolution Radiometer : radiomètre avancé à très haute résolution
EDE	Etablissement Départemental de l'Elevage
EPIA	Unité d'Épidémiologie Animale
GAM	Generalized Additive Model
GLM	Generalized Linear Model
IC	Intervalle de Confiance
InVS	Institut de Veille Sanitaire
NDVI	Normalised Derived Vegetation Index
NB	Negative Binomial : loi de distribution binomiale négative
NOAA	National Oceanic and Atmosphere Administration
OMS	Organisation Mondiale de la Santé (en anglais: WHO)
ONCFS	Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage
SIG	Système d'Information Géographique
WHO	World Health Organisation
ZINB	Zero-Inflated Negative Binomial : loi de distribution binomiale négative à classe zéro augmentée
ZIP	Zero-Inflated Poisson : loi de distribution de Poisson à classe zéro augmentée

Glossaire

Agent pathogène Micro-organisme qui peut engendrer une maladie (Petit Larousse).

Agrégation spatiale Un agrégat se traduit par des événements plus regroupés dans l'espace que ne le laisse présager le hasard (Gay, 2006). L'agrégation correspond généralement à une autocorrélation spatiale positive des données.

Autocorrélation spatiale Grandeur traduisant les corrélations (indice statistique indiquant le degré de liaison) entre les différentes observations d'une même variable mesurée en différents points de l'espace, calculée sur la base des distances qui séparent ces observations (Cressie, 1993).

AVHRR Capteur embarqué sur certains satellites à mission environnementale, à balayage continu et générant des images dont la résolution est de 1,1 km à la verticale du satellite. http://www.satmos.meteo.fr/html_fr/SATELLITE.html

Climax Etat idéal d'équilibre atteint par l'ensemble sol-végétation d'un milieu naturel donné. La biomasse y est maximale (Petit Larousse).

Déficit de saturation (SD) Relation entre la température T (°C) et l'humidité relative de l'air RH (%) utilisée pour quantifier la « sécheresse de l'air » (Perret *et al.*, 2000) :

$$SD = 1 - \frac{RH}{100} \times 4,9463 \times \exp(0,0621 \times T)$$

Dessiccation Elimination de l'humidité d'un corps (Petit Larousse).

Diapause Diminution de l'activité métabolique induite par des neurohormones (Degeilh, 2007).

Eco-épidémiologie Approche épidémiologique s'intéressant aux relations écologiques entre les facteurs de pathogénicité, les populations-cibles et l'environnement (la définition de ce concept n'est pas encore arrêtée, on peut cependant se référer à des approches telles que celles présentées par « the center for EcoEpidemiology », <http://www.yale.edu/yibs/research/CEE.html>).

Ecosystème Ensemble des composants physiques et biologiques d'une unité naturelle homogène, et des relations liant entre eux ces paramètres. Exemples : une mare, une forêt, un individu (pour un parasite obligatoire) représentent trois écosystèmes différents (Toma *et al.*, 1991).

Ecotone Zone de transition écologique entre deux écosystèmes (Despommier *et al.*, 2007).

Epidémiologie Science qui étudie la distribution et les déterminants des états de santé ou des événements de santé dans une population définie, et application de cette étude au contrôle des problèmes de santé (Last, 1988).

Germe Micro-organisme. Etre vivant microscopique tel que les bactéries, les virus, les champignons unicellulaires et les protistes. Appelés autrefois microbes, les micro-organismes jouent un rôle essentiel dans les cycles écologiques, mais certaines espèces sont pathogènes (Petit Larousse).

Incidence En épidémiologie, nombre de nouveaux cas d'une maladie dans une population pendant un temps donné.

Infection Pénétration et reproduction dans un organisme réceptif d'une entité étrangère capable de s'y multiplier et de reproduire des entités identiques (Toma *et al.*, 1991).

Infestation Pénétration et évolution d'un parasite dans un organisme. Le mot infestation s'emploie pour les parasites, de la même façon que le mot infection s'emploie pour les bactéries, virus, champignons... Mais alors que dans une infection, les éléments reproduits sont identiques à ceux qui leur ont donné naissance, dans une infestation, il existe différentes phases au cours desquelles les parasites prennent une morphologie différente de celle des éléments initiaux (Toma *et al.*, 1991).

Maladie infectieuse Maladie due à un agent pathogène qui se multiplie dans l'organisme atteint (Toma *et al.*, 1991).

Maladie vectorielle Maladie transmise par un vecteur (Toma *et al.*, 1991).

Phénologie Etude de l'influence des climats sur les phénomènes biologiques saisonniers végétaux (feuillaison, floraison...) et animaux (migration, hibernation...) (Petit Larousse).

Population cible En épidémiologie, population parmi laquelle est étudiée une maladie (Haydon *et al.*, 2002).

Réplétion Etat d'un organe rempli (Petit Larousse).

Réservoir En épidémiologie, un, ou plusieurs mécanisme(s), milieu(x), ou espèce(s), connectés épidémiologiquement, permettant la survie d'un agent pathogène considéré en tant qu'espèce, et par qui l'infection est transmise à la population cible préalablement définie (Toma *et al.*, 1991 ; Haydon *et al.*, 2002).

Risque acarologique Densité de tiques infectées à l'affût (Brownstein *et al.*, 2005).

Série de végétation Modèle de l'évolution d'une couverture végétale par stades successifs en un même lieu. Exemple de séries de végétation : chênaie à *Quercus pubescens*, chênaie à *Carpinus betulus* et *Quercus robur*, frênaie à *Populus alba*...

Stade En entomologie, période entre deux mues n'entraînant pas de changement morphologique majeur. Chez les tiques Ixodina, les trois stades correspondent aux trois stades (Brun, 2000 ; Pérez-Eid, 2007).

Stase En entomologie, période entre deux mues responsables de la métamorphose (Brun, 2000 ; Pérez-Eid, 2007).

Sympatrique Se dit d'espèces ou variétés qui habitent la même aire ou des aires se recouvrant, et y constituent des peuplements mixtes (Office de la langue française, 1990).

Système d'Information Géographique (SIG) Outil informatique permettant d'organiser et de présenter sous forme de carte des données spatialement référencées.

Tranche Dans notre étude, surface de 10 m² échantillonnée par la méthode du drapeau.

Vecteur Etre vivant qui, à l'occasion de relations écologiques, acquiert un agent pathogène sur un hôte vivant, et le transmet ensuite à un autre hôte (Toma *et al.*, 1991).

Zoonose Maladie ou infection qui se transmet naturellement des animaux vertébrés à l'Homme et vice-versa (Toma *et al.*, 1991).

Introduction et objectifs

Avec 869 espèces recensées dans le monde (Pérez-Eid, 2007), dont 41 en France (Guiguen et Degeilh, 2001), les tiques jouent un rôle majeur en épidémiologie humaine et animale. Parasites hématophages obligatoires, elles sont impliquées dans les cycles de transmission d'agents pathogènes variés (virus, bactéries, protozoaires, helminthes). Ainsi, les tiques transmettent une plus grande variété d'agents pathogènes que n'importe quel autre groupe d'arthropodes et sont parmi les vecteurs les plus importants capables d'infecter à la fois l'Homme et les animaux domestiques (Tableau 1). En effet, la maladie de Lyme, les encéphalites à tiques et les fièvres hémorragiques, ont un impact grandissant en santé publique et les tiques sont à l'origine de maladies sévères handicapant notablement les élevages de nombreuses régions du monde. Dans les zones tempérées de l'hémisphère Nord, on considère que les maladies à vecteurs les plus fréquemment rencontrées sont celles transmises par les tiques (Jongejan et Uilenberg, 2005).

A priori, les tiques tirent leur efficacité vectorielle de leur mode de vie : des repas sanguins multiples, longs et volumineux sur des hôtes diversifiés, un haut potentiel reproductif, et la subsistance des germes vectorisés lors des mues. Le transport passif de ces germes sur des hôtes – ayant pour certains de vastes domaines vitaux – assure leur large diffusion (Pérez-Eid, 2007). Ainsi, les germes circulent d'une population réservoir d'hôtes vertébrés aux tiques, puis à d'autres hôtes vertébrés, dont la sensibilité est l'expression du degré de pathogénicité des germes (Figure 1).

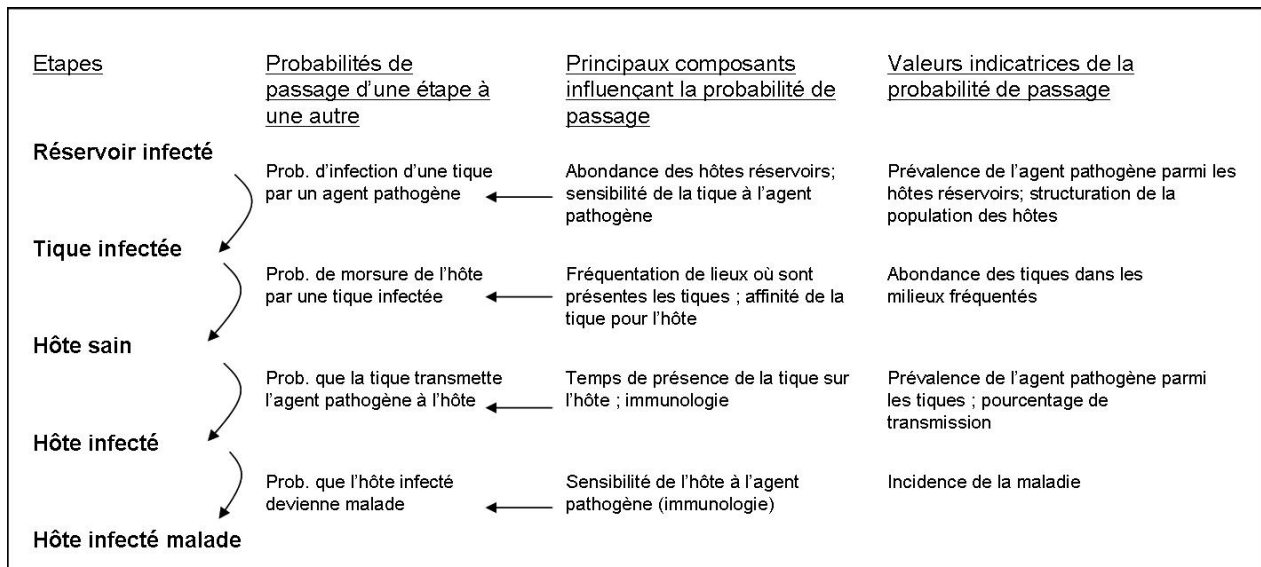


Figure 1 : Décomposition schématique du risque de transmission de maladies par les tiques chez un hôte.

Le risque de maladies transmises par les tiques peut être abordé en étudiant les différents compartiments du système vectoriel : la connaissance des hôtes réservoirs des agents pathogènes, celle de la population du vecteur et celle de la prévalence de l'infection au sein du vecteur. Mais le risque est aussi fonction des chances de rencontre

du vecteur avec les individus de la population cible, ainsi que de la sensibilité de cette population. L'intégration de l'ensemble des composants est complexe en raison des interactions entre les processus. L'épidémiologie et plus particulièrement l'éco-épidémiologie répondent au besoin d'intégrer l'environnement dans l'étude des maladies, car l'étude des propriétés de l'agent pathogène ne suffit pas, bien souvent, à expliquer la propagation des maladies (Sabatier *et al.*, 2005 ; Smith *et al.*, 2005). C'est ainsi qu'est apparue la notion de risque acarologique intégrant à la fois les notions d'abondance du vecteur dans l'environnement et de prévalence de l'infection parmi la population vectrice (Brownstein *et al.*, 2005).

Ixodes ricinus, dont le nom vernaculaire est la tique européenne du mouton, est présente de l'Europe de l'ouest à l'Oural, ainsi qu'en Afrique du Nord. Cette tique vit dans les milieux boisés, les landes et les pâtures, où elle trouve refuge dans les micro-habitats humides. Par ailleurs, son affinité pour l'Homme est grande (Parola et Raoult, 2001) et elle est la tique la plus souvent impliquée dans les cas d'infections en France (Guiguen et Degeilh, 2001). L'augmentation des densités d'*I. ricinus* en contact avec l'Homme semble être à l'origine d'une augmentation d'incidence des maladies transmises, en particulier de la maladie de Lyme.

Les pays d'Europe les plus touchés par la maladie de Lyme, qui est causée par des bactéries du groupe *Borrelia burgdorferi* sensu lato, sont la Slovénie et l'Autriche, avec respectivement 120 et 130 cas pour 100 000 habitants. En France, on a recensé 16 cas pour 100 000 habitants en 1995, soit au total 7200 cas (World Health Organization, 2004). La répartition de la maladie de Lyme en France est irrégulière : certains cantons d'Alsace ont compté plus de 200 cas pour 100 000 habitants par an sur la période 2001-2003, alors que l'incidence moyenne pour la région est de 86 (Institut de Veille Sanitaire, 2005). Pour l'Allier, le Cantal et le Puy-de-Dôme, on a recensé respectivement 43, 86 et 72 cas pour 100 000 habitants en 2005, et 44, 102 et 103 cas pour 100 000 habitants en 2006 (Chastel, 2007).

L'Auvergne est par ailleurs une région endémique de la babésiose, également transmise par *I. ricinus* (L'Hostis *et al.*, 1995a), qui concerne essentiellement les bovins et peut très exceptionnellement atteindre l'Homme. La babésiose bovine, qui peut concerner une fraction significative d'un troupeau, est susceptible d'être mortelle lorsqu'elle n'est pas suivie d'un traitement, ou si elle a fait l'objet d'une intervention vétérinaire trop tardive. La convalescence de la babésiose bovine est longue, associée à un retard de croissance non négligeable chez le jeune, ou à un arrêt prolongé de la sécrétion lactée (Bourdoiseau et L'Hostis, 1995). En France, l'incidence clinique de la babésiose bovine varie de 0 à 2,1% par an selon les départements (L'Hostis et Seegers, 2002), avec une incidence moyenne de 0,1% par an sur l'ensemble de la population bovine française (L'Hostis *et al.*, 2007). La majorité des cas se déclare en mai-juin, et dans une moindre mesure en septembre-octobre (L'Hostis *et al.*, 2007).

Pour Wilcox et Ellis (2006), la babésiose et la maladie de Lyme sont des maladies émergentes liées à la forêt. En effet, l'expansion des activités humaines dans les forêts et la fragmentation de ces dernières ont favorisé les contacts entre les animaux domestiques, la faune sauvage et l'Homme. En France, le territoire occupé par la forêt n'a pas cessé d'augmenter depuis la fin du XIX^{ème} siècle, augmentation qui s'est accompagnée d'un accroissement très significatif de la taille des populations de gibiers, notamment des chevreuils (*Capreolus capreolus*) et des cerfs (*Cervus elaphus*)

(ONCFS, 2005). En outre, George et Chastel (2002) ont suggéré que la réduction du nombre des prédateurs des petits mammifères (mulots et campagnols) a permis à ces populations de proliférer et d'amplifier leur rôle de réservoirs. Les pratiques d'élevage, elles aussi en cours de transformation (extensification, élevages de plein-air, entretien limité des pâtures), semblent aller, quant à elles, dans le sens de l'augmentation des contacts entre animaux domestiques et habitats naturels des tiques (L'Hostis et Seegers, 2002).

L'Auvergne, cadre des études qui vont être rapportées, est une région à caractère rural au sein de laquelle les populations humaines entretiennent une relation étroite avec l'environnement. Ainsi, les activités professionnelles et de loisirs des populations locales exposent un grand nombre de personnes au risque de morsure par les tiques. A ce sujet, les groupes à risque comprennent principalement les travailleurs du secteur forestier, les agriculteurs et les éleveurs de bétail, les pêcheurs et les chasseurs, les ramasseurs de champignons, les randonneurs, les campeurs et les propriétaires d'animaux de compagnie (Brun, 2000). Le milieu boisé a fait l'objet de nombreuses études concernant le risque acarologique, qui correspond à l'estimation de l'abondance des tiques infectées dans l'environnement. A contrario, la présence d'*I. ricinus* au niveau de l'écotone entre le bois et la pâture, qui est un carrefour de rencontres entre de nombreuses espèces d'hôtes, n'a été que peu étudiée.

Compte tenu du rôle central du vecteur dans l'explication des cas de maladies transmises par les tiques, la connaissance de son mode de vie et de sa répartition constitue un atout essentiel pour lutter contre ces maladies. Dans le contexte général de l'évaluation du risque infectieux lié à la transmission d'agents pathogènes par les tiques, l'objectif de cette thèse est d'étudier la répartition d'*I. ricinus* – à l'échelle du promeneur – dans un environnement où des populations humaines à risque, telles que les éleveurs ou les forestiers, les animaux d'élevage et la faune sauvage entrent fréquemment en contact. La première partie du mémoire relate à ce propos les connaissances actuelles sur la biologie d'*I. ricinus* en relation avec la vectorisation de pathogènes, ainsi que les questions méthodologiques soulevées par l'analyse de l'abondance des tiques. La deuxième partie comprend le déroulement des études éco-épidémiologiques réalisées sur des sites modèles localisés dans deux régions naturelles d'Auvergne : les Combrailles et l'ouest du Cantal, et les résultats obtenus. Dans ce cadre, l'objectif a été de caractériser les facteurs environnementaux locaux influençant l'abondance des nymphes *I. ricinus* sur les prairies permanentes pâturées par les bovins, puis d'éclaircir, au travers des populations de micromammifères, les modalités de circulations d'*I. ricinus* entre les bois et les prairies permanentes.

Tableau 1 : Tiques d'importance économique, rôle vecteur ou maladies transmises (d'après Jongejan et Uilenberg, 2005).

Le tableau présente les espèces de tiques les plus importantes et les associations connues entre tiques et hôtes. Les noms anciens sont spécifiés entre crochets.

- (1) rôle vecteur suspecté ;
- (2) d'autres sous-espèces *H. asiaticum* pourraient être aussi des vecteurs ;
- (3) beaucoup d'autres espèces de tiques peuvent induire une toxicité ;
- (4) beaucoup d'autres espèces de tiques peuvent être impliquées.

Espèce de tique	Effet néfaste dû à la morsure de tiques, agent pathogène transmis ou maladie (agent étiologique)
Argasidae	
<i>Argas brumpti</i> (Neumann, 1907)	Morsures douloureuses et prurit grave chez l'Homme
<i>A. miniatus</i> (Koch, 1844)	Borréliose aviaire (<i>Borrelia anserina</i>)
<i>A. monolakensis</i> (Schwan, Corwin & Brown, 1992)	Virus Mono Lake chez l'Homme
<i>A. persicus</i> (Oken, 1818)	Borréliose aviaire (<i>Borrelia anserina</i>) ; Aegyptianellosis (<i>Anaplasma [Aegyptionella] pullorum</i>) (1)
<i>A. reflexus</i> (Fabricius, 1794)	Perte de sang chez les pigeons; Aegyptianellosis (<i>Anaplasma [Aegyptionella] pullorum</i>) (1)
<i>A. walkerae</i> (Kaiser & Hoogstraal, 1969)	Aegyptianellosis (<i>Anaplasma [Aegyptionella] pullorum</i>) ; Paralysie causée par une toxine chez les oiseaux
<i>Ornithodoros asperus</i> (Warburton, 1918)	Borréliose (<i>Borrelia caucasica</i>)
<i>O. coriaceus</i> (Koch, 1844)	Avortement bovin épizootique ; morsures très douloureuses
<i>O. erraticus</i> (Lucas, 1849)	Virus de la Peste Porcine Africaine ; borréliose (<i>Borrelia crocidurae</i>)
<i>O. hermsi</i> (Wheeler, Herms & Meyer, 1935)	Borréliose (<i>Borrelia hermsi</i>)
<i>O. moubata</i> (Murray, 1877)	Fièvre récurrente humaine africaine (<i>Borrelia duttonii</i>) ; Virus de la Peste Porcine Africaine
<i>O. parkeri</i> (Cooley, 1936)	Borréliose (<i>Borrelia parkeri</i>)
<i>O. savignyi</i> (Audouin, 1827)	Perte de sang chez les animaux domestiques ; prurit grave chez l'Homme
<i>O. porcinus</i> (Walton, 1962)	Virus de la Peste Porcine Africaine ; Fièvre récurrente humaine africaine
<i>O. tartakovskyi</i> (Olenev, 1931)	Borréliose (<i>Borrelia tatyshewii</i>)
<i>O. tholozani</i> (Laboulbène & Mégnin, 1882)	Borréliose (<i>Borrelia persica</i>)
<i>O. turicata</i> (Dugès, 1876)	Borréliose (<i>Borrelia turicatae</i>)

Tableau 1 (suite)

Espèce de tique	Effet néfaste dû à la morsure de tiques, agent pathogène transmis ou maladie (agent étiologique)
<i>Otobius megnini</i> (Dugès, 1883)	Otite sévère chez le bétail
Ixodidae	
<i>Amblyomma americanum</i> (Linnaeus, 1758)	Lucilie bouchère, tularémie ; ehrlichiose humaine (<i>Ehrlichia chaffeensis</i>)
<i>A. astrion</i> (Dönitz, 1909)	Cowdriose des ruminants (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>)
<i>A. cajennense</i> (Fabricius, 1787)	Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses (<i>Rickettsia rickettsii</i>)
<i>A. cohaerens</i> (Dönitz, 1909)	Cowdriose des ruminants (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>) ; Theilériose africaine bénigne chez le bétail (<i>Theileria mutans</i>)
<i>A. gemma</i> (Dönitz, 1909)	Cowdriose des ruminants (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>) ; Theilériose africaine bénigne chez le bétail (<i>Theileria mutans</i>)
<i>A. hebraeum</i> (Koch, 1844)	Cowdriose des ruminants (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>) ; Theilériose africaine bénigne chez le bétail (<i>Theileria mutans</i>) ; Fièvre africaine à tiques chez l'Homme (<i>Rickettsia africae</i>) ; réactions locales graves (abcès mammaires chez le bétail)
<i>A. lepidum</i> (Dönitz, 1909)	Cowdriose des ruminants (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>) ; Theilériose africaine bénigne chez le bétail (<i>Theileria mutans</i>)
<i>A. maculatum</i> (Koch, 1844)	Vecteur expérimental de cowdriose (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>) ; Hépatozoonoses chez les chiens (<i>Hepatozoon americanum</i>) ; réactions locales graves
<i>A. marmoreum</i> (Koch, 1844)	Cowdriose des ruminants (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>)
<i>A. pomposum</i> (Dönitz, 1909)	Cowdriose des ruminants (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>)
<i>A. tholloni</i> (Neumann, 1899)	Cowdriose des ruminants (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>)
<i>A. variegatum</i> (Fabricius, 1794)	Cowdriose des ruminants (<i>Ehrlichia</i> [<i>Cowdria</i>] <i>ruminantium</i>) ; Theilériose africaine bénigne chez le bétail (<i>Theileria mutans</i>) ; Associés à une dermatophilose sévère chez les ruminants (<i>Dermatophilus congolensis</i>) ; Vecteur du virus de Thogoto (1) ; Fièvre africaine à tiques chez l'Homme (<i>Rickettsia africae</i>) ; réactions locales sévères chez le bétail (abcès podaux et mammaires)
<i>Boophilus annulatus</i> (Say, 1821)	Babésiose bovine (<i>Babesia bovis</i> et <i>Babesia bigemina</i>) ; Anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i>)
<i>B. decoloratus</i> (Koch, 1844)	Babésiose bovine (<i>Babesia bigemina</i>) ; Anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i>)
<i>B. geigy</i> (Aeschlimann & Morel, 1965)	Babésiose bovine (<i>Babesia bovis</i> et <i>Babesia bigemina</i>) (1)
<i>B. microplus</i> (Canestrini, 1888)	Babésiose bovine (<i>Babesia bovis</i> et <i>Babesia bigemina</i>), Piroplasmose équine (<i>Theileria equi</i>) ; Anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i>)

Tableau 1 (suite)

Espèce de tique	Effet néfaste dû à la morsure de tiques, agent pathogène transmis ou maladie (agent étiologique)
<i>Dermacentor albipictus</i> (Packard, 1869)	Anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i>) ; Alopecie grave chez les orignaux
<i>D. andersoni</i> (Stiles, 1908)	Encéphalite à tiques (virus Powassan) ; Virus de la fièvre à tiques du Colorado ; Anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i>) ; Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses (<i>Rickettsia rickettsia</i>) ; toxines paralysantes
<i>D. auratus</i> (Supino, 1897)	Cause de trouble dans les parties boisées de l'Himalaya
<i>D. marginatus</i> (Sulzer, 1776)	Babésiose canine (<i>Babesia canis</i>) ; Rickettsiose humaine (<i>Rickettsia slovaca</i>) ; Fièvre Q humaine (<i>Coxiella burnetii</i>)
<i>D. nitens</i> (Neumann, 1897)	Babésiose équine (<i>Babesia caballi</i>)
<i>D. nuttalli</i> (Olenev, 1928)	Rickettsiose humaine (<i>Rickettsia sibirica</i>)
<i>D. occidentalis</i> (Marx, 1892)	Anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i>)
<i>D. reticulatus</i> (Fabricius, 1794)	Babésiose équine (<i>Babesia caballi</i>) ; Babésiose canine (<i>Babesia canis</i>) ; Typhus à tiques de Sibérie (<i>Rickettsia sibirica</i>) ; Rickettsiose humaine (<i>Rickettsia slovaca</i>)
<i>D. variabilis</i> (Say, 1821)	Anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i>) ; Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses chez l'Homme (<i>Rickettsia rickettsia</i>) ; toxines paralysantes chez les animaux et l'Homme
<i>Haemaphysalis flava</i> (Neumann, 1897)	<i>Rickettsia japonica</i>
<i>H. concinna</i> (Koch, 1844)	<i>Rickettsia sibirica</i>
<i>H. leachi</i> (Audouin, 1826)	Babésiose canine (<i>Babesia rossi</i>)
<i>H. longicornis</i> (Neumann, 1901)	Babésiose bovine (<i>Babesia ovata</i>) ; Theilériose bovine de l'Asie Orientale (<i>Theileria buffeli</i>) ; Babésiose canine (<i>Babesia gibsoni</i>) ; Rickettsiose humaine (<i>Rickettsia japonica</i>)
<i>H. punctata</i> (Canestrini & Fanzago, 1878)	Babésiose bovine (<i>Babesia major</i>) ; Babésiose des petits ruminants (<i>Babesia motasi</i>) ; Theilériose bovine bénigne cosmopolite (<i>Theileria buffeli</i>)
<i>H. qinghaiensis</i> (Teng, 1980)	Theilériose des petits ruminants en Chine
<i>H. spinigera</i> (Neumann, 1897)	Virus de la maladie forestière de Kyasanur chez l'Homme
<i>H. turturis</i> (Nuttall and Warburton, 1915)	Virus de la maladie forestière de Kyasanur chez l'Homme
<i>Hyalomma anatolicum anatolicum</i> (Koch, 1844)	Theilériose bovine tropicale (<i>Theileria annulata</i>) ; Theilériose des petits ruminants (<i>Theileria lestoquardi</i>)
<i>H. anatolicum excavatum</i> (Koch, 1844)	Theilériose bovine tropicale (<i>Theileria annulata</i>)
<i>H. asiaticum asiaticum</i> (Schulze and Schlottke, 1930)	Theilériose bovine tropicale (<i>Theileria annulata</i>) ; Rickettsiose humaine (<i>Rickettsia mongolotimonae</i>) (2)
<i>H. detritum detritum</i> (Schulze, 1919)	Theilériose bovine tropicale (<i>Theileria annulata</i>)

Tableau 1 (suite)

Espèce de tique	Effet néfaste dû à la morsure de tiques, agent pathogène transmis ou maladie (agent étiologique)
<i>H. dromedarii</i> (Koch, 1844)	Theilériose bovine tropicale (<i>Theileria annulata</i>)
<i>H. lusitanicum</i> (Koch, 1844)	Theilériose bovine tropicale (<i>Theileria annulata</i>)
<i>H. marginatum marginatum</i> (Koch, 1844)	Theilériose bovine tropicale (<i>Theileria annulata</i>) ; Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo chez l'Homme
<i>H. marginatum rufipes</i> (Koch, 1844)	Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo chez l'Homme
<i>H. truncatum</i> (Koch, 1844)	Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo chez l'Homme ; Sudation, toxicose chez les animaux domestiques ; Rickettsiose humaine (<i>Rickettsia mongolotimonae</i>)
<i>Ixodes cookei</i> (Packard, 1869)	Encéphalite (virus Powassan)
<i>I. hexagonus</i> (Leach, 1815)	Borréliose de Lyme (<i>Borrelia burgdorferi s.l.</i>)
<i>I. holocyclus</i> (Neumann, 1899)	Paralysie chez les animaux et l'Homme ; <i>Rickettsia australis</i> ; holocyclotoxine
<i>I. ovatus</i> (Neumann, 1899)	<i>Rickettsia japonica</i>
<i>I. pacificus</i> (Cooley & Kohls, 1943)	Borréliose de Lyme (<i>Borrelia burgdorferi s.l.</i>)
<i>I. persulcatus</i> (Schulze, 1930)	Virus de l'encéphalite à tiques ; Borréliose de Lyme (<i>Borrelia burgdorferi s.l.</i>)
<i>I. ricinus</i> (Linnaeus, 1758)	Encéphalite à tiques chez l'Homme et les animaux, dont le virus Louping ill chez les moutons ; Borréliose de Lyme (<i>Borrelia burgdorferi s.l.</i>) ; Babésiose dans les troupeaux et plus rarement chez l'Homme (<i>Babesia divergens</i>) ; Babésiose humaine (<i>Babesia microti</i>) ; Fièvre à tiques ou fièvre des pâturages chez les ruminants et ehrlichiose granulocytaire humaine (<i>Anaplasma [Ehrlichia] phagocytophilum</i>) ; <i>Rickettsia helvetica</i>
<i>I. rubicundus</i> (Neumann, 1904)	Paralysie à tiques importante chez les moutons (Toxines paralysantes de Karoo) (3)
<i>I. scapularis</i> (Say, 1821)	Borréliose de Lyme (<i>Borrelia burgdorferi s.l.</i>) ; ehrlichiose granulocytaire humaine et ehrlichiose équine (<i>Anaplasma [Ehrlichia] phagocytophilum</i>) ; babésiose humaine (<i>Babesia microti</i>)
<i>Rhipicephalus appendiculatus</i> (Neumann, 1901)	Fièvre de la Côte Est et maladie du corridor chez le bétail (<i>Theileria parva</i>) ; Theilériose bovine bénigne (<i>Theileria taurotragi</i>) ; Virus de la maladie du mouton de Nairobi ; Virus Thogoto (4)
<i>R. bursa</i> (Canestrini & Fanzago, 1878)	Babésiose des petits ruminants (<i>Babesia ovis</i>) ; Babésiose bovine (<i>Babesia bigemina</i>) ; anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i>) ; Anaplasmose des petits ruminants (<i>Anaplasma ovis</i>)

Tableau 1 (suite)

Espèce de tique	Effet néfaste dû à la morsure de tiques, agent pathogène transmis ou maladie (agent étiologique)
<i>R. evertsi evertsi</i> (Neumann, 1897)	Piroplasmose équine (<i>Babesia caballi</i> ; <i>Theileria equi</i>) ; Anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i>) ; Paralysie à tiques chez les animaux (toxine)
<i>R. sanguineus</i> (Latreille, 1806)	Ehrlichiose canine (<i>Ehrlichia canis</i>) ; Babésiose bovine (<i>Babesia vogeli</i>) ; Hépatozoonose canine (<i>Hepatozoon canis</i>) ; Fièvre à tiques chez les humains (<i>Rickettsia conorii</i>)
<i>R. simus</i> (Koch, 1844)	Anaplasmose bovine (<i>Anaplasma marginale</i> ; <i>Anaplasma centrale</i>)
<i>R. zambeziensis</i> (Walker, Norval & Corwin, 1981)	Fièvre de la Côte Est, maladie du corridor chez le bétail (<i>Theileria parva</i>) ; Theilériose bovine bénigne (<i>Theileria taurotragi</i>)

1^{ère} partie : **Etude bibliographique**

Dans un premier temps, la biologie de la tique *I. ricinus*, en tant qu'acteur central de la thèse, va être présentée en relation avec son rôle épidémiologique incluant la vectorisation d'agents pathogènes et les maladies induites. Dans un second temps, les problématiques liées à l'étude et à la modélisation des facteurs d'abondance des tiques dans l'environnement et sur les hôtes seront passées en revue. Cette partie sera abordée sous l'angle méthodologique correspondant à des études en situation réelle, qui ont été la base de cette thèse.

I Biologie de la tique *Ixodes ricinus* en relation avec les agents pathogènes transmis

I.1 Biologie d'*Ixodes ricinus*, acquisition et transmission de pathogènes

I.1.1 Classification et morphologie

L'espèce *I. ricinus* appartient à l'embranchement des arthropodes, à la classe des Arachnida, à l'ordre des Ixodida, sous-ordre Ixodina (Tableau 2). Cette tique fait partie d'un complexe d'espèces « cousines », avec *I. scapularis*, *I. persulcatus* et *I. pacificus*, qui lui sont phylogénétiquement proches (Black et Piesman, 1994 ; Xu *et al.*, 2003) (Figure 2).

Tableau 2 : Classification de l'espèce *Ixodes ricinus* (Camicas *et al.*, 1998).

embranchement	Arthropoda
sous-embranchement	Chelicerata
classe	Arachnida
sous-classe	Acarida (Acarie)
super-ordre	Anactinotrichoida
ordre	Ixodida (Tiques)
sous-ordre	Ixodina (Tiques dures)
famille	Ixodidae
genre	Ixodinae
sous-genre	<i>Ixodes</i>
espèce	<i>Ixodes ricinus</i>

Dans l'embranchement des arthropodes, les sexes sont séparés. Le corps est formé de segments articulés recouverts d'une cuticule rigide, constituant un squelette externe composé dans la plupart des cas de chitine. La croissance se fait par des mues successives. Une mue peut entraîner des changements (physiologiques, histologiques, comportementaux) majeurs ; dans ce cas, elle est responsable d'une métamorphose et matérialise le passage d'une stase à l'autre. Les stases (larvaire, nymphale et imaginale) peuvent être divisées en stades (ex. : stades larvaires I, II et III), s'il existe des mues n'entraînant pas de profonds changements morphologiques. Pour *I. ricinus*, stases et stades sont confondus.

La classe des Arachnida est caractérisée par un corps composé d'un céphalothorax et d'un abdomen, qui sont fusionnés en un ovale unique chez les acariens (sous-classe Acarida).

Chez les tiques (Ixodida), le corps est aplati et de taille relativement grande par rapport aux autres acariens (0,5 à 1 mm pour les larves *I. ricinus*, 1 à 2 mm pour les nymphes et 5 à 15 mm pour les adultes). Il est composé d'une partie antérieure, le capitulum, formant la tête, et d'une partie postérieure, l'idiosome (Figure 3).

Le capitulum comporte les organes nécessaires à la fixation de la tique sur l'hôte et à la succion du sang, soit :

- latéralement : une paire de palpes, qui ont un rôle strictement sensoriel ;
- axialement en position ventrale : l'hypostome, qui est l'organe d'ancrage dans la peau de l'hôte, composé de nombreuses dents dirigées vers l'arrière ;
- axialement en position dorsale : les chélicères, qui constituent les pièces perforatrices et permettent l'incision des téguments de l'hôte, puis la pénétration de l'hypostome.

L'ensemble de l'idiosome est ponctué de pores, de soies tactiles et de sensilles sécrétrices et mécano-réceptrices, dont la répartition est propre aux espèces. La face ventrale de l'idiosome comporte quatre paires de pattes pour les nymphes et les adultes et trois pour les larves, un orifice génital (adulte femelle) dans sa région antérieure, et un orifice anal dans la région postérieure. Cette face peut être parcourue par des sillons, soit le sillon génital et le sillon anal chez les tiques dures (Ixodina). La première paire de pattes porte l'organe de Haller ; cet organe sensoriel, composé de nombreuses soies, est utilisé pour localiser les hôtes et analyser leurs odeurs. Des orifices respiratoires, les stigmates, se situent en position ventrolatérale de l'idiosome chez les nymphes et les adultes. Chez les larves, la finesse du tégument permet une respiration transcutanée.

Chez les tiques dures (Ixodina), la face dorsale de l'idiosome est recouverte d'une plaque chitineuse appelée écusson ou scutum, qui permet de différencier le mâle de la femelle. Chez le mâle, le scutum recouvre la totalité de la surface dorsale, alors que chez la femelle, ainsi que chez les larves et les nymphes, seule la partie antérieure est recouverte. La partie postérieure non chitineuse, souple et élastique, permet le gorgement (ingestion et digestion du sang).

A jeûn, *I. ricinus* a l'aspect d'une graine de ricin, d'où son nom latin. Gorgée, une adulte femelle peut atteindre la taille d'un petit pois (Figure 4).

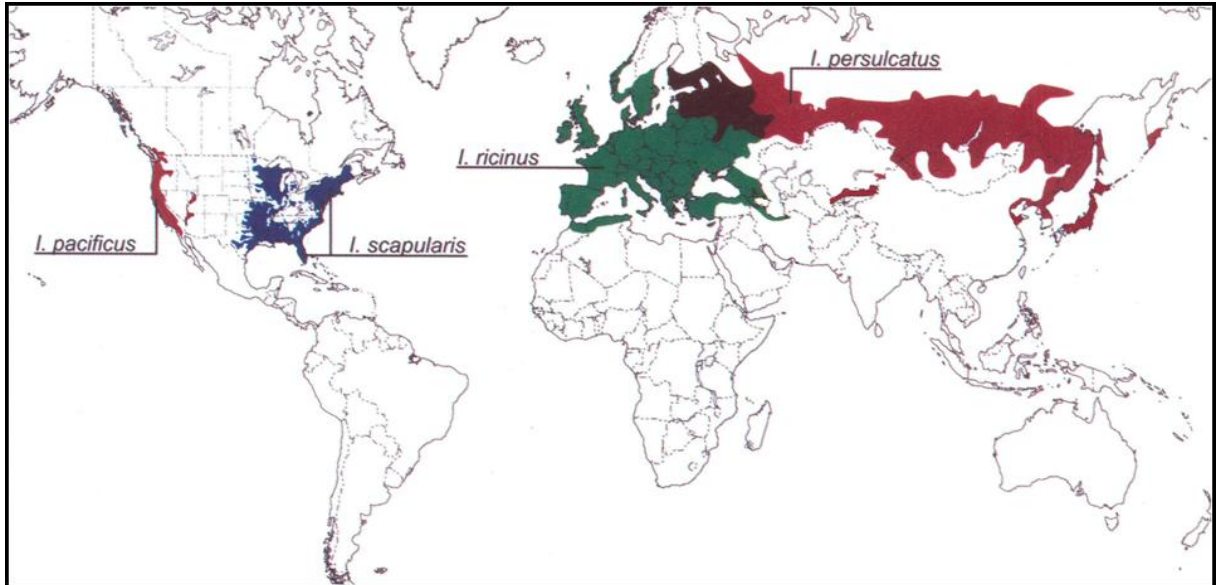


Figure 2 : Répartition des espèces du complexe *Ixodes ricinus* responsables de la transmission de *Borrelia burgdorferi* s.l., agent étiologique de la maladie de Lyme (d'après Goodman *et al.*, 2005).

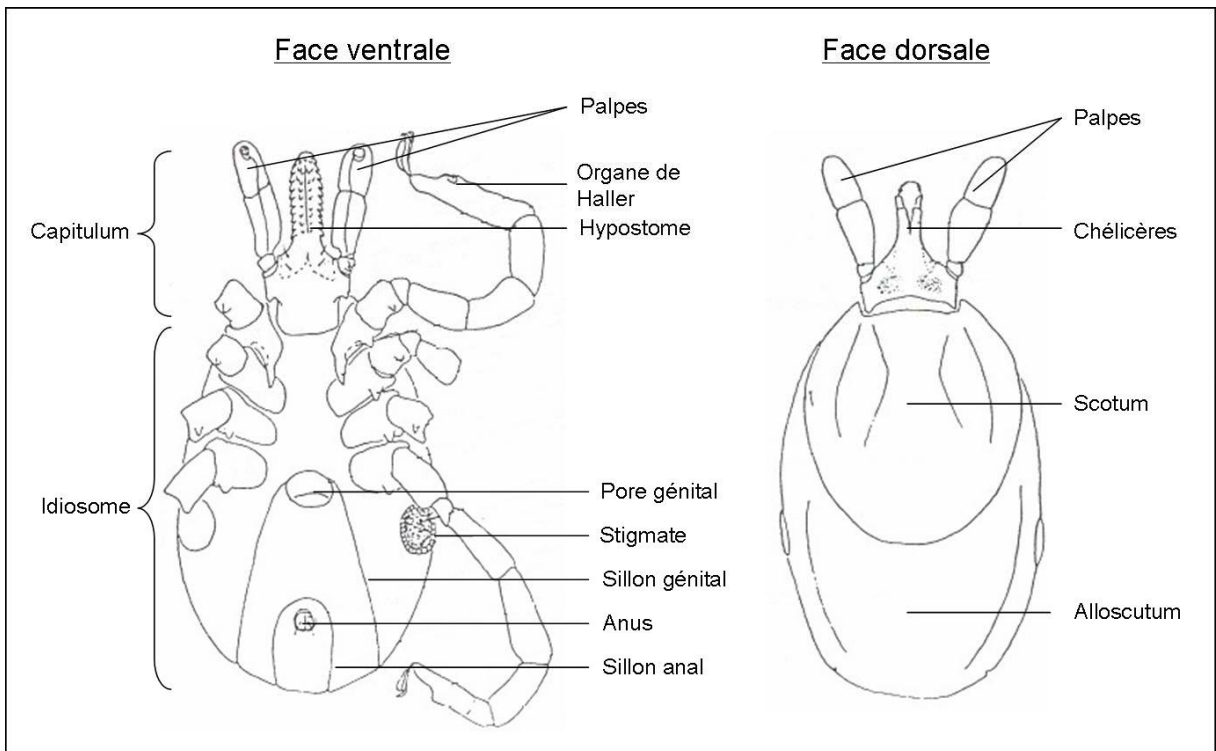


Figure 3 : Représentation schématique de la morphologie des adultes femelles d'*Ixodina* (d'après Morel).



Figure 4 : Les quatre stases d'*Ixodes ricinus*.

Un carreau = 1x1 mm. De gauche à droite :

Première ligne : larve, nymphe adulte femelle et adulte mâle non gorgés.
Deuxième ligne : larve, nymphe et adulte femelle gorgées. (Photo : EPI-A)

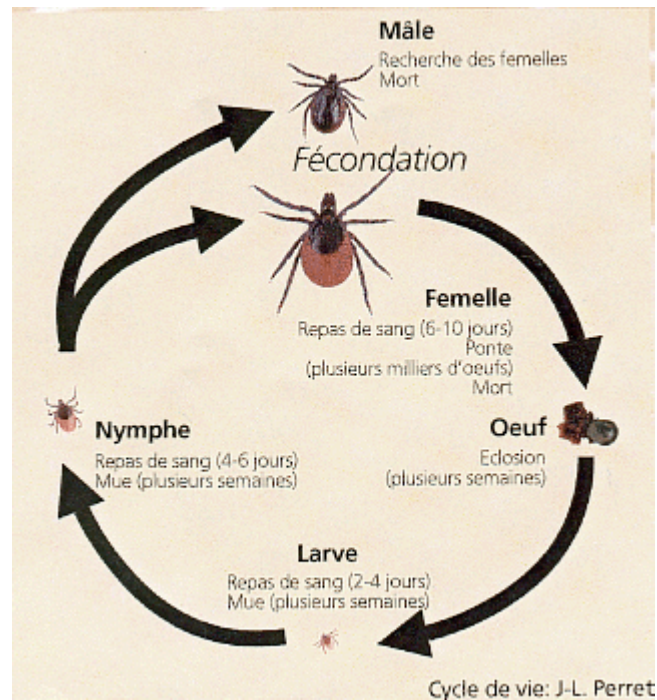


Figure 5 : Cycle de vie d'*Ixodes ricinus*. Source J-L. Perret.

I.1.2 Habitat

L'habitat d'*I. ricinus*, tempéré et humide, est composé de pâtures boisées, de jardins, de haies brise-vent et de bois ; ceci à travers la majeure partie de l'Europe, de l'Angleterre à la mer Caspienne, et du nord de l'Afrique au sud de la Scandinavie (Figure 2). La répartition d'*I. ricinus* dépend de conditions environnementales (micro-habitat) et de la présence d'hôtes.

Les types de milieu colonisés par *I. ricinus* varient selon les régions. Ils correspondent aux milieux qui sont fréquentés par les hôtes, et qui procurent des conditions micro-climatiques compatibles avec une bonne hydratation de la tique. Entre 10 et 30°C, l'humidité relative de l'air doit être maintenue supérieure à 80% pour assurer la survie d'*I. ricinus*. En Angleterre, *I. ricinus* se trouve dans des zones marécageuses où l'eau ne s'écoule pas, avec une végétation de buissons de fougère ou de bruyère (Milne, 1950). Dans les prairies d'Europe continentale, *I. ricinus* survit beaucoup moins bien que dans les milieux plus abrités. En revanche, elle s'y développe plus rapidement (Daniel *et al.*, 1976, 1977). Globalement, *I. ricinus* est plus abondante dans les forêts que dans les milieux ouverts ; et lorsqu'elle est présente dans les milieux ouverts, c'est à l'écotone qu'on la trouve, abritée à l'ombre des broussailles (Aeschlimann, 1981 ; L'Hostis *et al.*, 1995b ; Lindstrom et Jaenson, 2003).

La limite d'altitude au-delà de laquelle la tique n'est plus présente dépend de la localisation : *I. ricinus* ne se rencontre pas en Ecosse au-delà de 600 m (Elston *et al.*, 2001), elle n'est plus retrouvée en France au-delà de 1300-1500 m (ou peut-être 1700 m dans les Pyrénées, Pérez-Eid, 2007), et en Italie, au-delà de 1300 m (Rizzoli *et al.*, 2002).

Les chevreuils sont considérés comme les hôtes principaux d'*I. ricinus*, leur biotope correspondant très bien à celui de la tique : des forêts clairsemées avec des boisements diversifiés, dominés par des feuillus, un sol riche avec un enneigement réduit en durée et en hauteur. *I. ricinus*, ne colonise pas les forêts trop denses et privilégie les forêts de feuillus à sols riches (Aeschlimann, 1972). Les chevreuils constitueraient en conséquence un bon marqueur de la présence d'*I. ricinus* (Gilot *et al.*, 1994).

I.1.3 Cycle de vie

Le cycle de vie d'*I. ricinus* (Figure 5) dure en moyenne deux à six ans (Sonenshine, 1993) et se décompose, comme précisé plus haut, en trois stases : larve, nymphe et adulte. A chaque stase, correspond un stade parasitaire hématophage pendant lequel la tique se fixe sur un hôte différent. Ce cycle triphasique est doublé d'une ubiquité parasitaire (ou télotropie) qui permet aux tiques de parasiter une large gamme d'hôtes (Encadré n°1).

La mortalité d'*I. ricinus* est très élevée même si elle est difficile à estimer. En effet, l'espèce a une stratégie de reproduction rapide et massive, mais avec de forts taux de mortalité entre chaque stase. Randolph et Craine (1995) estiment que 2000 œufs sont nécessaires pour le développement de deux adultes. Les tiques sont victimes de prédateurs (ex. : carabes, oiseaux, Gigon, 1985) et d'agents pathogènes qui leur sont délétères (ex. : champignons, autres acariens, Samish et Rehacek, 1999).

Les phases parasitaires ne représentent que 2% du temps du cycle de vie d'*I. ricinus*, bien qu'elles soient à la base des transferts d'agents pathogènes entre le vecteur et ses

hôtes. Pour les hôtes, le risque d'être mordu est ainsi lié à la saisonnalité du cycle de la tique.

Encadré n°1 : Les différents cycles des tiques.

Acariens hématophages obligatoires, les tiques ont trois stases de développement : larvaire, nymphale et imaginale (ou adulte). Certaines espèces de tiques, en particulier, les Argasina, présentent plusieurs stades intermédiaires. Chacune des mues, responsable du passage d'une stase à la suivante ou d'un stade au suivant, nécessite la prise préalable d'un repas de sang sur un animal hôte.

Le nombre d'individu parasités au cours de la vie d'une tique détermine les cycles :

- **polyphasiques** (concerne les Argasina) ;
- **triphases**, lorsque les trois stases évoluent sur trois hôtes différents, ce qui correspond à trois phases parasitaires (cas d'*Ixodes ricinus*) ;
- **diphases**, lorsque larves et nymphes effectuent leur repas sur le même animal, soit deux phases parasitaires ;
- **monophases**, phase parasitaire unique, résultant de la succession des trois repas sur le même animal.

L'attrance (tropisme) des tiques, pour une espèce d'hôte particulière ou un groupe d'hôtes particuliers, a donné lieu à une classification en trois catégories :

- Les tiques **télotropes** abordent tous les hôtes disponibles dans un habitat donné. En général, les adultes manifestent en fin de cycle un tropisme d'hôte caractérisé envers les ongulés (cas d'*I. ricinus*).
- Chez les tiques **ditropes**, les immatures (larves et nymphes) ne se nourrissent pas sur les mêmes hôtes que les adultes. Par exemple, *Dermacentor reticulatus* est une espèce ditrope : les immatures se gorgent sur les micromammifères (rongeurs et insectivores), et les adultes parasitent les herbivores et les ongulés.
- Toutes les stases des tiques **monotropes** se gorgent sur un même type d'hôte.

D'après Gilot, p.62 (1985) et Pérez-Eid, p. 12 (2007).

I.1.3.1 Repas sanguin et transmission d'agents pathogènes

Après s'être agrippée à la fourrure de l'animal de passage – ou à la peau d'un Homme – *I. ricinus* se déplace sur l'hôte jusqu'à une zone de peau fine et richement vascularisée. Puis, elle coupe l'épiderme et insère progressivement chélicères et hypostome dans la plaie. Pendant cette opération, la salive est excrétée dans la cavité buccale, dont l'hypostome constitue le plancher et les chélicères les parois dorso-latérales. La salive contient un « cocktail » de substances remplissant des fonctions spécifiques : des anesthésiants empêchant la sensation de douleur chez l'hôte, des anti-inflammatoires et immunosuppresseurs limitant les réactions immunitaires, le ciment renforçant la fixation de la tique sur l'hôte, enfin, des substances protéolytiques, anticoagulantes et vasodilatatrices créant une « lacune de nutrition » (cavité dermique se remplissant de sang). Des phases de succion du sang de l'hôte et d'émission salivaire, se succèdent ensuite, *I. ricinus* digérant et concentrant le sang. L'excédent de fluide absorbé est réémis dans la plaie avec la salive après un certain temps de fixation (Pérez-Eid, 2007).

Lorsque la tique ingère du sang infecté ou mord dans des tissus infectés par un agent pathogène, celui-ci trouve en premier lieu refuge dans l'intestin. Suivant sa nature, il va y séjourner ou bien il va migrer vers d'autres organes. Pour que la transmission de la tique à l'hôte puisse avoir lieu lors du repas suivant, il est nécessaire que l'agent pathogène subsiste après la mue (transmission transtadiale). La transmission d'un agent pathogène à un hôte, dans le cas d'*I. ricinus* (Figure 6), peut se faire par transmission salivaire ou par transmission fécale. Dans ce dernier cas, les germes présents dans la partie terminale du tube digestif sont évacués avec les déjections, la transmission de l'agent pathogène pouvant s'effectuer par voie aérienne (Pérez-Eid, 2007).

La probabilité de transmission d'un agent pathogène par morsure de tique augmente avec le temps de fixation de la tique. Il est donc toujours utile de retirer les tiques en cours de gorgement. Dans le cas d'une espèce du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.), la bactérie se multiplie dans l'intestin de la tique pendant les deux premières semaines après la réplétion, mais sa population chute brutalement avant la mue de la tique. La bactérie subsiste après la mue, puis un signal émis au début du repas suivant induit l'invasion des glandes salivaires par la bactérie, laquelle se produit en moyenne une vingtaine d'heures après le début du repas avec des variations selon les espèces bactériennes (Piesman et Gern, 2005). On estime ainsi qu'une tique retirée dans la journée n'a pas eu le temps de transmettre *B. burgdorferi* s.l., bien qu'il ait été observé des tiques à jeun présentant des infections des glandes salivaires, et donc susceptibles de transmission dans un délai plus court (Piesman et Gern, 2005). Un délai similaire est nécessaire à la transmission de la tique à l'hôte d'*Anaplasma phagocytophilum* (chez *I. scapularis*, Massung *et al.*, 2004), tandis que l'inoculation des *Babesia* a lieu en fin de repas (Maslin *et al.*, 2004). Il semble que la transmission des virus ponne au moins 36 à 48 heures, quant aux rickettsies, elles se multiplient dans les glandes salivaires et sont, à ce titre, immédiatement transmissibles (Chastel, 2007).

Une tique doit être retirée mécaniquement à l'aide d'une pince ou d'un crochet ôte tique (tire-tic®). Un mouvement rotatif permet de la libérer entièrement et sans douleur. Les autres méthodes, comme par exemple, l'utilisation d'éther ou de goutte d'huile sont à proscrire, car en endormant la tique ou en l'étouffant, elles peuvent induire une régurgitation susceptible de transmettre des agents pathogènes. Néanmoins, l'avantage

de telle ou telle méthode sur une autre n'a pas été prouvé (Kahl *et al.*, 1998) et la régurgitation intestinale n'a pas été démontrée chez *I. ricinus*.

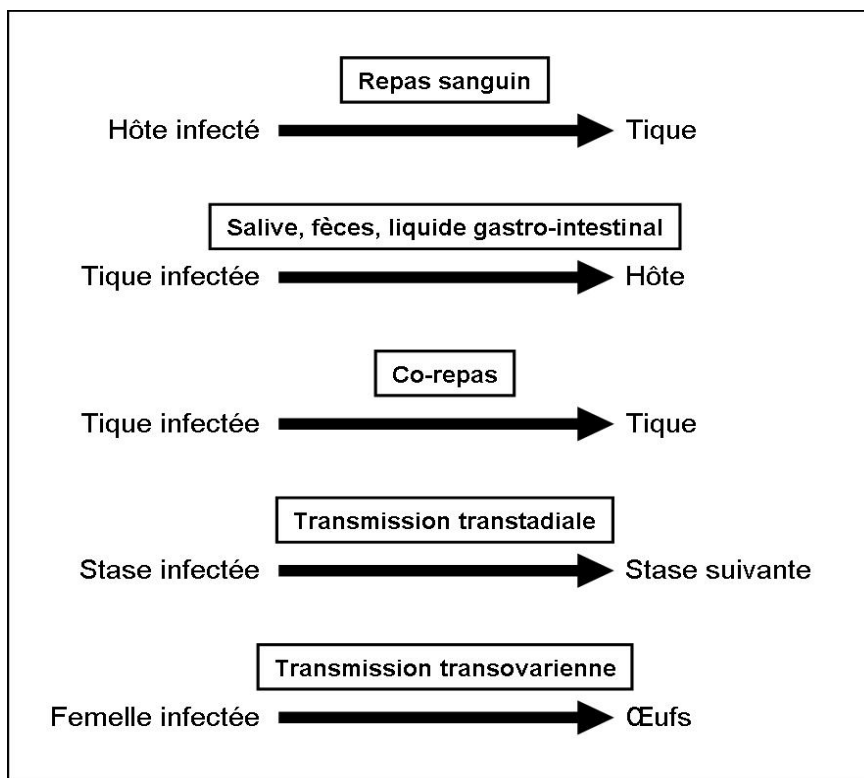


Figure 6 : Voies de transmission des agents pathogènes pour la tique *Ixodes ricinus*.

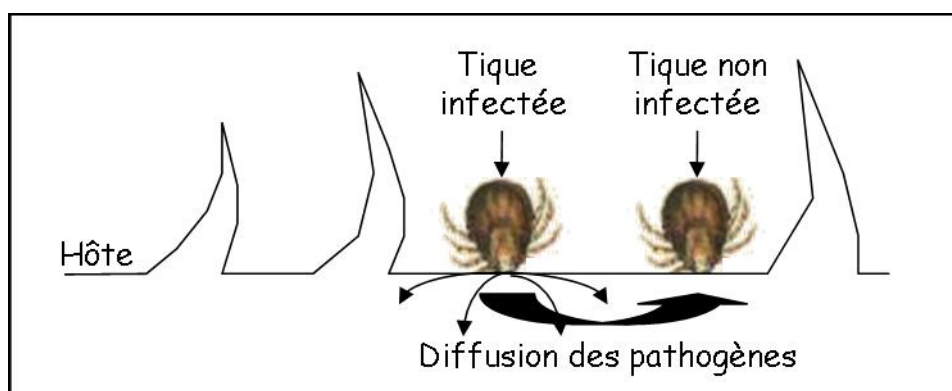


Figure 7 : Transmission d'agents pathogènes par co-repas.

A la différence des autres arthropodes hématophages, les ixodida ont la caractéristique de se gorger très lentement. Chez *I. ricinus*, le repas dure deux à quatre

jours pour les larves, quatre à six jours pour les nymphes, et six à dix jours pour les femelles. La durée du repas est également modulée par la température corporelle de l'hôte (Matuschka *et al.*, 1990). Les mâles *I. ricinus* ne se nourrissent pas. Lorsque la réplétion est atteinte, la tique se dégage de la peau de l'hôte, puis elle tombe au sol et recherche un abri pour muer ou, si c'est une femelle fécondée, pour pondre. La femelle pond entre 500 et 5000 œufs selon la quantité de sang ingérée, puis se dessèche et meurt (Gray, 2002). Gorgée, la taille d'*I. ricinus* peut être multipliée par dix par rapport à sa taille originelle.

Les repas sanguins sont autant d'occasions pour la tique d'acquérir un agent pathogène. L'animal hôte peut présenter une infection généralisée ou un tissu infecté, ou bien l'agent pathogène peut circuler d'une tique à l'autre par co-repas, c'est-à-dire qu'une tique infectée va implanter localement l'agent pathogène dans les tissus de l'animal hôte, et une tique naïve se nourrissant à proximité va acquérir cet agent sans que l'hôte soit infecté (Figure 7).

La transmission transtadiale est à la base de la vectorisation. Lorsqu'il existe une transmission transovarienne (transmission du pathogène de la tique femelle à l'ensemble ou une partie de ses œufs) en plus de la transmission transtadiale, la tique peut jouer le rôle de réservoir de l'agent pathogène (Figure 6). C'est le cas d'*I. ricinus* pour la transmission de *Babesia divergens*, agent de la babésiose bovine (Maslin *et al.*, 2004). Sans transmission transovarienne, seules les nymphes et les adultes sont infectantes.

En France, en moyenne 10 à 12% des adultes *I. ricinus* sont porteuses de *Borrelia burgdorferi* s.l., avec des variations en fonction de la zone étudiée (Gilot *et al.*, 1996). 2% à 9% d'*I. ricinus* seraient porteuses de *Rickettsia helvetica* en Europe de l'Ouest, et 0,4 à 66,7% seraient porteuses d'*Anaplasma phagocytophilum* (Blanco et Oteo, 2002).

Les *I. ricinus* peuvent être porteuses de plusieurs agents pathogènes simultanément et ont alors la capacité de transmettre des co-infections lors d'une seule et unique morsure. Les co-infections chez *I. ricinus* peuvent provenir d'un repas unique pris sur un hôte lui-même co-infecté, d'un repas unique pris à proximité d'autres tiques infectées (transmission par co-repas), ou bien de plusieurs repas. Notons que la règle admise du repas unique par stase a fait l'objet d'observations contraires, mais qui apparaissent exceptionnelles. Il semble en effet qu'une interruption du repas sanguin, phénomène assez rare, puisse obliger la tique à compléter son repas sur un deuxième hôte (Gray *et al.*, 1999 ; Pichon *et al.*, 2005).

I.1.3.2 Préférences trophiques

I. ricinus est une espèce « trixène », dans la mesure où trois hôtes différents sont nécessaires à son développement. Elle est également dite « télotrope » en raison de la diversité des espèces d'hôtes potentiels. Chez *I. ricinus*, on distingue des tropismes différents pour chaque stase. Les larves parasitent une gamme d'hôtes allant des lézards aux grands mammifères, en passant par les petits rongeurs et les oiseaux. Les nymphes délaissent les animaux les plus petits, tandis que les adultes parasitent davantage les grands mammifères sauvages et domestiques (Aeschlimann, 1972). Ces derniers procurent les ressources nécessaires aux femelles, qui pondent d'autant plus d'œufs qu'elles sont bien nourries. L'Homme constitue une cible potentielle pour chacune des trois stases.

I. ricinus reconnaît les animaux hôtes grâce aux composés volatiles émis par ceux-ci. Ainsi, *I. ricinus* répond indifféremment aux odeurs de bovins, d'humains, de souris ou de chevreuils (Osterkamp *et al.*, 1999). Le déplacement des tiques sur les hôtes n'est pas systématique. En effet, sur certains hôtes, *I. ricinus* trouve des sites d'attachement plus rapidement que sur d'autres (Nilsson et Lundqvist, 1978). Par ailleurs, les sites d'attachement d'*I. ricinus* varient selon l'hôte et la stase : sur les moutons, les larves mordent les parties du mouton qui sont proches du sol (museau et au dessus des sabots), les adultes privilégient les oreilles, l'aine et le cou ; quant aux nymphes, elles mordent dans des zones intermédiaires entre celles des larves et des adultes (Ogden *et al.*, 1998). Chez les oiseaux, les tiques sont retrouvées autour du bec, qui est un endroit inaccessible au détiqage. Les larves d'*I. ricinus* sur les micromammifères se rencontrent sur les oreilles, sur le museau et entre les phalanges.

La structure de la communauté des animaux hôtes disponibles pour *I. ricinus* joue sur la prévalence des pathogènes dans la population de tiques. Certaines espèces sont importantes pour le maintien des populations de tiques, d'autres sont réservoirs d'agents pathogènes. Les grands mammifères, tels que les chevreuils, représentent un élément essentiel pour l'accomplissement de l'ensemble du cycle de développement d'*I. ricinus*. Les larves semblent en fait être présentes uniquement où les grands mammifères peuvent circuler (Gray *et al.*, 1995 ; Pichon *et al.*, 1999). Les chevreuils sont d'ailleurs tenus pour responsables des fortes densités d'*I. ricinus* (Gray *et al.*, 1992). Les rongeurs, en revanche, constituent des réservoirs de maladies très importants. Parmi les maladies humaines transmises par *I. ricinus*, ils sont en effet réservoirs de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo, de l'encéphalite à tique, de la fièvre Q, de la tularémie, de la maladie de Lyme (principalement *B. afzelii* en Europe) et de l'ehrlichiose granulocytaire humaine. Ils sont également réservoirs de maladies non transmises par les tiques, telles que la leptospirose, la leishmaniose et la peste (Clement et Van Ranst, 2000). Les conditions climatiques, les cycles propres à la production de semences (glandées, fâinées) par les arbres sont autant de facteurs qui vont agir sur la population de rongeurs, et donc sur la proportion de larves *I. ricinus* qui vont se nourrir de leur sang, et en conséquence sur la quantité de nymphes infectées à l'affût l'année suivante (exemple pour *I. scapularis* : Jones *et al.*, 1998). Enfin, les oiseaux ne sont pas à négliger en tant que réservoirs de la maladie de Lyme (principalement *B. garinii* en Europe, Comstedt *et al.*, 2006).

L'Homme, hôte accidentel d'*I. ricinus*, joue le rôle de « cul-de-sac » épidémiologique pour les agents pathogènes transportés. La stase la plus impliquée dans les cas de maladies humaines semble être la stase nymphale. En effet, le taux d'incidence de la maladie de Lyme est fortement corrélé aux densités de nymphes *I. ricinus*, mais pas aux densités d'adultes (Hubálek *et al.*, 2003b). Les nymphes sont plus petites que les adultes et par conséquent, leur morsure est moins vite repérée. Elles ont déjà eu un repas de sang, donc une occasion de s'infecter sur un hôte réservoir. De plus, les nymphes *I. ricinus* sont plus attirées par les humains que les adultes (Vassallo et Pérez-Eid, 2002).

I.1.3.3 Activité d'*I. ricinus* et saisonnalité du risque acarologique

La période de recherche de l'hôte par la tique est plus communément appelée « période d'activité », par opposition aux phases de développement et de mue qui ont lieu à même le sol ou juste en-dessous du niveau du sol (Gray, 1998). La période

d'activité d'*I. ricinus*, qui intervient aux stases larve, nymphe et adulte non gorgée, est entrecoupée de phases exophiles (Encadré n°2) pendant lesquelles *I. ricinus* grimpe sur les tiges des herbes pour attendre le passage d'un hôte, et de phases de repos, pendant lesquelles la tique descend au sol se réhydrater.

Encadré n°2 : Exophilie / endophilie.

Le terme « exophile », souvent employé à propos de l'espèce *I. ricinus* pour signifier qu'elle vit hors des habitats fermés de ses hôtes (nids, terriers, maison), sert également à définir la phase pendant laquelle *I. ricinus* se met en quête d'un hôte à l'affût sur la végétation, en proie aux conditions régnant à l'air libre.

A contrario, le terme « endophile », que certains auteurs réservent aux espèces nidicoles, est également accepté dans le sens où les phases de développement, de mues et de pontes, ainsi que les phases de repos, sont réalisées à l'abri des couches superficielles du sol (Aeschlimann, 1981 ; Sonenshine, 1993 ; Degeilh, 2007).

La quête de l'hôte se décline en plusieurs étapes (Osterkamp *et al.*, 1999). Tout d'abord, *I. ricinus* grimpe sur un promontoire ou se dégage de la litière. Lorsque qu'elle perçoit des vibrations, une émission de CO₂ ou de composés volatiles émanant d'un animal, la tique entre dans une phase d'agitation : elle se tient dressée, pattes de devant tendues, à la manière de deux antennes, orientant l'organe de Haller dans la direction du stimulus (Figure 8). Si l'animal s'approche suffisamment, la tique s'y accroche, puis recherche un endroit favorable pour mordre (MacLeod, 1932 ; Gigon, 1985 ; Osterkamp *et al.*, 1999).

L'hygrométrie de l'air, la température et la photopériode conditionnent la période d'activité. La température constitue le facteur essentiel du développement d'*I. ricinus* (MacLeod, 1934 ; Campbell, 1948 ; Randolph, 2005), tandis que les basses hygrométries limitent son activité (MacLeod, 1935 ; Perret *et al.*, 2000 ; Perret *et al.*, 2003). Ainsi, en Grande-Bretagne, les températures optimum pour la quête semblent s'étaler de 14°C à 23°C (MacLeod, 1934), et l'humidité requise serait de 40% à hauteur de l'herbe (Milne, 1945). En Suisse, l'activité des adultes n'est pas détectée à moins de 4°C (Mermod *et al.*, 1974).



Figure 8 : *Ixodes ricinus* à l'affût sur la végétation.

A) *I. ricinus* adultes femelles, pattes de devant tendues, prêtes à profiter du moindre contact avec un hôte potentiel ; B) *I. ricinus* adulte mâle, immobile, en attente d'un stimulus. Lorsqu'une tique, embusquée sur une tige d'herbe, attend le passage d'un hôte pour s'y accrocher, on dit qu'elle est à l'affût, ou encore qu'elle est en activité. (Photos : EPI-A)

Globalement, pour la stase nymphale, on observe deux pics d'activité d'*I. ricinus* sur une année, le premier au printemps, et le second, moins important et plus ou moins marqué selon les régions, en automne (L'Hostis *et al.*, 1995b ; Randolph *et al.*, 2002 ; Estrada-Peña *et al.*, 2004). L'intensité des pics – et leur moment d'apparition – varient selon les biotopes, les régions et les années étudiés (L'Hostis *et al.*, 1995b ; Walker, 2001 ; Michalik *et al.*, 2003 ; Estrada-Peña *et al.*, 2004). L'été, la chute d'activité peut être rapportée à une augmentation du déficit de saturation (Randolph et Storey, 1999 ; Perret *et al.*, 2000). En altitude, le début de l'activité a tendance à être retardé. Le pic est également moins élevé quand l'altitude croît, mais se prolonge plus longtemps, et le pic automnal a tendance à disparaître (Perret, 2002 ; Jouda *et al.*, 2004). Comme la température diminue avec l'altitude, le retard est probablement dû à un délai plus grand dans le développement de la tique, ou bien dans l'activation des *I. ricinus* qui ont déjà mué. Perret *et al.* (2004) supposent que pour que le pic automnal ait lieu, il faut que les températures estivales aient été élevées, permettant ainsi aux larves gorgées au printemps de se développer rapidement, afin d'être à nouveau actives à l'automne en tant que nymphes (Figure 9).

Une étude écossaise, montre que le nombre de larves à l'affût est corrélé à la température, et celui des nymphes et des adultes plutôt à l'hygrométrie (Walker, 2001). Les larves ont besoin de températures assez hautes pour se développer. Elles entrent ainsi en activité un mois après les nymphes, le pic d'activité ayant lieu en juillet-août en dépit du risque de dessiccation (L'Hostis *et al.*, 1995b ; Walker, 2001). Les larves

compensent ce risque par une hauteur de quête plus proche du sol que les nymphes et les adultes (Gigon, 1985 ; Meljon et Jaenson, 1997).

La durée des phases exophiles, relativement à la période d'activité, varie également d'une région à l'autre et selon la couverture végétale : en Grande-Bretagne, les adultes passent environ 30% de leur temps à l'affût, selon Lees et Milne (1951), contre 75% sur le plateau Suisse (Gigon, 1985). Le rythme des phases exophiles, selon Gigon (1985), n'est pas déterminé lorsque les conditions sont bonnes (hygrométrie suffisante), un rythme journalier s'instaurant si l'humidité vient à manquer (Randolph et Storey, 1999).

Lorsqu'*I. ricinus* s'est nourrie, elle se détache, tombe et s'abrite des conditions extérieures dans la couche supérieure du sol. Le développement peut alors avoir lieu rapidement, si du moins les températures et la photopériode le permettent ; sinon, le développement est différé et la tique entre en diapause (Belozarov *et al.*, 2002), le développement reprenant au début du printemps de l'année suivante.

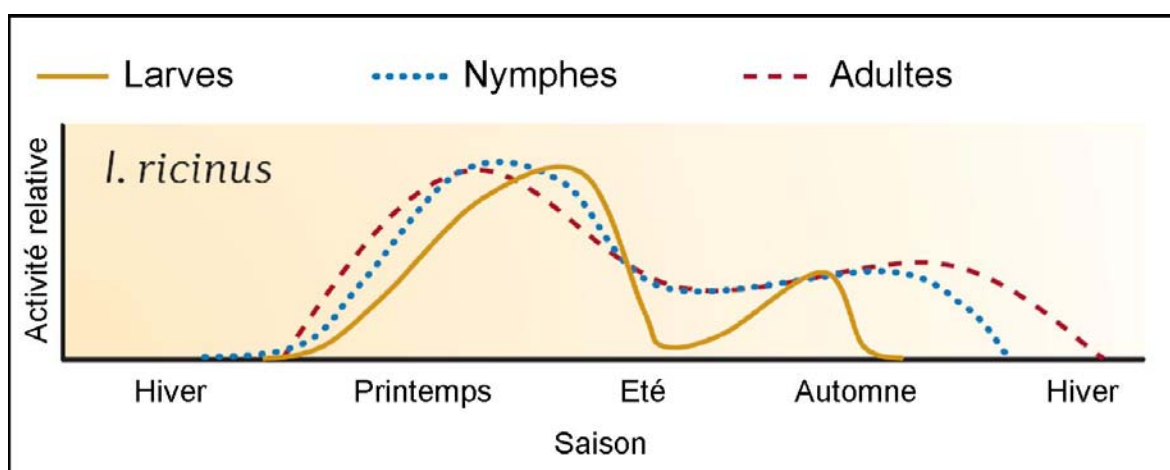


Figure 9 : Activité saisonnière d'*Ixodes ricinus* en Europe centrale, Nord de l'Angleterre et Ecosse (d'après Kurtenbach *et al.*, 2006).

Les conditions climatiques pouvant influencer l'activité saisonnière d'*I. ricinus* et avancer le pic d'activité des larves, pour le superposer à celui des nymphes, sont en cause dans les foyers de diffusion de l'encéphalite à tiques. En effet, elles permettent la prise de repas simultanés des larves et des nymphes, qui échangent le virus par co-repas. La synchronisation a lieu dans les régions où la chute de température en automne est responsable d'une diapause précoce des larves, qui attendent ainsi le printemps pour se gorger en même temps que les nymphes (Randolph *et al.*, 2000). En Alsace, foyer d'encéphalite à tiques, l'activité des nymphes et des larves *I. ricinus* est synchronisée. Dans la Sarthe et en Saône-et-Loire, les nymphes sont en activité deux mois avant les larves (Randolph, 2003).

La mesure de l'activité des tiques donne une indication assez précise du risque d'être mordu. La méthode la plus couramment utilisée pour collecter les tiques, la méthode du drapeau, rend compte de l'intensité de l'activité générale (Cf. II.1.1). L'estimation de la

densité de tiques à l'affût, couplée à la mesure de la prévalence des agents pathogènes parmi elles, permet de définir le risque acarologique. Lorsque la population cible est la population humaine, ce risque se mesure par l'activité des nymphes, en tant que stase la plus impliquée dans les infections humaines. Une étude de Gray *et al.* (1998) montre que la variation dans le pourcentage de nymphes infectées ne dément pas le constat global que plus il y a de nymphes en activité, plus il y a de nymphes infectées en activité et plus l'Homme a de risque d'être mordu et infecté. Une première approche du risque de transmission d'agents pathogènes par les tiques, en particulier par *I. ricinus*, peut donc être basée sur l'étude de l'abondance des tiques à l'affût. D'ailleurs, l'incidence des maladies transmises par *I. ricinus* suit globalement la courbe d'activité de cette espèce (Figure 10).

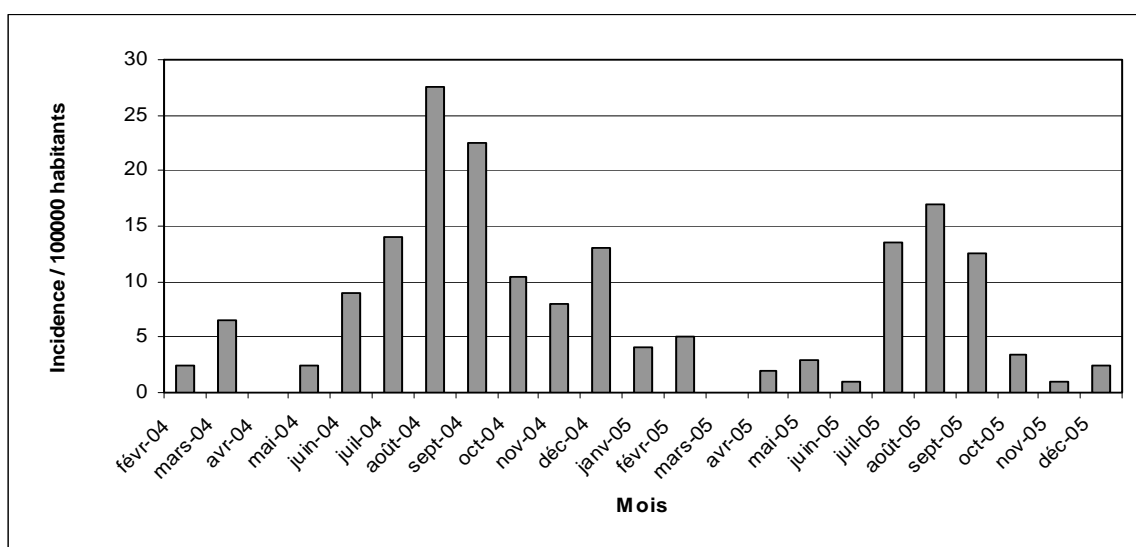


Figure 10 : Incidence mensuelle de la maladie de Lyme dans le Puy-de-Dôme en 2004 et 2005 (d'après Beytout *et al.*, 2007).

1.2 « L'écosystème *Ixodes ricinus* »

L'intérêt habituellement porté aux tiques est vu principalement par le filtre de la maladie. On s'intéresse d'abord à un agent pathogène particulier ou à un type d'agents pathogènes particulier avant de s'intéresser aux tiques. Cependant, une seule espèce de tique peut être à l'origine de la transmission de toute une batterie de germes, comme nous allons le voir pour *I. ricinus*.

1.2.1 *Ixodes ricinus* en tant que vecteur d'agents pathogènes

En Europe, *I. ricinus* est le vecteur principal de *Borrelia burgdorferi* s.l. (comprenant les agents de la maladie de Lyme), des virus des encéphalites à tiques, d'*Anaplasma phagocytophilum* (agent de l'anaplasmose granulocytaire), des babésias, dont l'importance en médecine vétérinaire est reconnue, de rickettsioses, du virus Eyach et d'autres Orbivirus (Tableau 3). La tique peut aussi jouer le rôle de réservoir principal de l'agent pathogène, c'est notamment le cas pour les *Babesia* sp., la femelle transmettant

alors l'infection à ses œufs (transmission transovarienne, L'Hostis et Seegers, 2002 ; Maslin *et al.*, 2004). C'est aussi le cas pour l'encéphalite à tiques européenne, l'infection étant alors maintenue dans la population de tiques via la transmission par co-repas entre nymphes infectées et larves (Randolph, 2005). Une même tique peut être infectée par plusieurs agents pathogènes en même temps, par exemple par *Borrelia burgdorferi* s.l. et par *Anaplasma phagocytophilum* (Swanson *et al.*, 2006).

I. ricinus est capable de transmettre d'autres agents pathogènes, dont elle peut être un vecteur secondaire (Tableau 4). Parmi ces agents, *Francilla tularensis*, responsable de la tularémie, et *Coxiella burnetii*, responsable de la fièvre Q, sont considérés comme des germes sensibles et font l'objet de surveillances contre les menaces bio-terroristes.

I.2.2 Autres germes isolés à partir d'*Ixodes ricinus*

D'autres micro-organismes, (cas des *erhlichia* ou des virus Tettngang, Uukuniemi ou Tula, Tableau 5) ont été isolés à partir d'*I. ricinus*, sans que le rôle de vecteur de la tique n'ait été définitivement établi. La flore interne d'*I. ricinus* peut également compter des organismes plus complexes, tels que des filaires ou des trypanosomes, mais *I. ricinus* n'apparaît pas compétent pour transmettre ces métazoaires et protozoaires (Aeschlimann *et al.*, 1979).

« L'écosystème *I. ricinus* » suscite un intérêt parmi les chercheurs souhaitant caractériser l'ensemble des agents potentiellement transportés, et mettre au point des techniques de détection sans a priori. Appliquer à la flore bactérienne de la tique ce concept signifie que l'on cherche à distinguer toutes les bactéries transportées avant de les identifier. En réalité, les inventaires réalisés sont dépendants des techniques mises en œuvre (universalité des marqueurs, sensibilité, Halos *et al.*, 2006). Malgré le travail méthodologique qui reste à accomplir à leur niveau, les méthodes de détection sans a priori pourraient permettre une meilleure connaissance de la flore bactérienne des tiques et des interactions entre bactéries pathogènes et bactéries commensales.

I.2.3 Maladies transmises par les tiques en Auvergne

Globalement, l'Auvergne fait partie des régions considérées à risque vis-à-vis de la transmission des maladies vectorisées par les tiques. Dans son étude sur ces maladies, Brun (2000) établit un bilan des observations cliniques régionales et cite les travaux de Noinsky rapportant 45 cas dans le nord du Puy-de-Dôme entre 1983 et 1987, ceux de Tartière qui rapporte 41 cas dans les centres hospitaliers de Clermont-Ferrand et Montluçon entre 1984 et 1987, et enfin ceux d'Arzouni (1993), qui révèle une séropositivité importante des éleveurs du nord-ouest de Clermont-Ferrand.

Une autre étude d'Arzouni et une étude rétrospective de Cribier entre 1985 et 1993, citées dans Brun (2000), montrent qu'il existe un foyer de fièvre boutonneuse méditerranéenne dans le nord-ouest du Puy-de-Dôme, avec comme agent *Rickettsia conorii* et comme vecteur *Rhipicephalus sanguineus*.

En Creuse, à Boussac, région limitrophe de l'Auvergne, une infection à *Rickettsia helvetica* a également été décrite en 1997. Il est fait également mention dans cette région (Brun, 2000) d'observations de rickettsioses à *Rickettsia slovaca*, bactérie pouvant être isolée à partir d'*I. ricinus* (Tableau 3). Mais, dans les deux cas mentionnés, il faut signaler que les patientes ont séjourné dans le Var et les Cévennes avant l'apparition des symptômes, observation qui montre la difficulté qu'il y a parfois chez l'Homme à rapporter une infection à une zone à risque. Brun (2000) note également dans son étude que l'Auvergne est considérée comme un foyer endémique de la tularémie, aucun cas consécutif à une morsure de tique n'ayant été néanmoins rapporté.

Tableau 3 : Les agents pathogènes vectorisés par *Ixodes ricinus*.

Agent pathogène	Maladie	Répartition
<p>Bactéries du complexe <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. :</p> <p>Réservoirs : rongeurs (<i>B. afzelii</i>, Hanincova <i>et al.</i>, 2003), oiseaux (<i>B. garinii</i> et <i>B. valaisiana</i>, Pichon <i>et al.</i>, 2005), écureuils (<i>B. burgdorferi</i> s.s., Humair et Gern, 1998), lézards (<i>B. lusitaniae</i>, Richter et Matuschka, 2006), lérots (<i>B. splanchniae</i>, Richter <i>et al.</i>, 2004)</p>	<p>La pathogénicité de <i>Borrelia burgdorferi</i> s.s., <i>B. garinii</i> et <i>B. afzelii</i> est reconnue. <i>B. lusitaniae</i>, <i>B. splanchniae</i> et <i>B. valaisiana</i> sont potentiellement pathogènes (Degeilh, 2007).</p> <p>Homme : maladie de Lyme. Signe pathognomonique : érythème migrant. Autres symptômes : syndrome grippal, arthrite, manifestations neurologiques, selon l'espèce bactérienne.</p> <p>Susceptibilité des animaux domestiques.</p>	<p>Maladie de Lyme vectorisée dans l'hémisphère nord par les tiques du groupe <i>Ixodes ricinus</i> : <i>I. scapularis</i> à l'est des Etats-Unis, <i>I. pacificus</i> à l'ouest des Etats-Unis, <i>I. persulcatus</i> en Asie, <i>I. ricinus</i> en Europe (Figure 2).</p> <p>Incidence en augmentation.</p>
<p>Virus des encéphalites à tiques (flavivirus) :</p> <p>Réservoirs : petits rongeurs et tiques (encéphalite à tique européenne), moutons et coq de bruyère (Louping ill, Chastel et Camicas, 1984)</p>	<p>Homme : encéphalite à tique européenne : atteinte du système nerveux central.</p> <p>Moutons, bovins et chevaux : Louping ill (encéphalomyélite)</p>	<p>Encéphalite à tique européenne : Europe occidentale, du nord de la Scandinavie jusqu'à l'Italie et de l'Alsace à l'Oural. Foyers localisés de maladies. Ex. : Alsace (France), nord du canton de Zurich (Suisse), sud de la Bohême (République Tchèque). L'incidence des cas semble augmenter dans le nord de l'Europe (Randolph, 2001). De nouveaux foyers d'endémie apparaissent.</p> <p>Louping ill : Grande-Bretagne et Irlande.</p>

Tableau 3 (suite)

Agent pathogène	Maladie	Répartition
<p><i>Anaplasma phagocytophilum</i></p> <p>Réservoirs : petits mammifères, ruminants (Woldehiwet, 2006)</p>	<p>Anaplasmosse granulocytaire</p> <p>Homme : (biovar EGH) syndrome grippal, anorexie, nausées, vomissements, maux de ventre, conjonctivite.</p> <p>Bovins : (biovar Phagocytophilum) fièvre des pâturages ou maladie des gros paturons, cause d'avortements.</p> <p>Ovins : (biovar Phagocytophilum) fièvre à tiques.</p> <p>Symptômes chez les ovins et les bovins : fièvre élevées, anorexie, perte de poids et chute de la production laitière.</p> <p>Equins : (biovar Equi, EGH) fièvre, léthargie, œdèmes des membres, ataxie, ictère, pétéchies, adénopathies, thrombocytopénies leucopénies</p> <p>Chien : (biovar EGH) fièvre, abattement.</p>	<p>Cas humains : Etats-Unis, Slovénie, Pays-Bas, Suède, France.</p> <p>Maladie reconnue récemment chez l'Homme : première sérologie positive en 1995 en Suisse. Premier cas clinique européen en 1997 en Slovénie. Maladie émergente.</p> <p>Cas chez les ruminants (biovar Phagocytophilum) : Europe (notamment : Royaume Uni, Norvège, Finlande, Suède, Irlande, Pays-Bas, Autriche, Allemagne, France, Espagne, Suisse), Inde, Afrique du Sud.</p> <p>Cas chez les chevaux et les chiens (biovar EGH) : Etats-Unis, Canada, Brésil, Venezuela, Thaïlande, Suède, Suisse, Italie.</p> <p>(Euzéby, 2002a)</p>
<p><i>Babesia</i> sp.</p> <p>Réservoirs : bovin (<i>B. divergens</i> et <i>B. Bovis</i>), petits rongeurs (<i>B. microti</i>), tiques</p>	<p>Babésiose</p> <p>Rare chez l'Homme. Affecte les individus splénectomisés.</p> <p>Bovins : fièvre, syndrome hémolytique.</p>	<p>Amérique du nord, Europe.</p> <p><i>B. microti</i> est responsable des cas de babésiose humaine aux Etats-Unis. Bien que sa prévalence dans <i>I. ricinus</i> semble équivalente à celle des tiques aux Etats-Unis, les cas humains sont rares en Europe et sont associés à des <i>Babesia</i> proches génétiquement de <i>B. divergens</i> (Duh <i>et al.</i>, 2001).</p> <p>Malgré une distribution géographique large parmi les bovins, peu de cas cliniques sont recensés.</p>
<p><i>Rickettsia helvetica</i></p> <p>Réservoir : indéterminé</p>	<p>Homme : fièvre boutonneuse (fièvre, péricardite, mort subite).</p>	<p>Europe : notamment en France, Suisse, Suède. (Premier isolat à partir d'<i>I. ricinus</i> en Suisse, puis dans le Puy-de-Dôme)</p>

Tableau 3 (suite)

Agent pathogène	Maladie	Répartition
<i>Rickettsia monacensis</i> Réservoir : indéterminé	Homme : maladie de type fièvre boutonneuse méditerranéenne.	La maladie a été récemment reconnue chez l'Homme en Espagne (Jado <i>et al.</i> , 2007). <i>R. monacensis</i> a été isolée à partir d' <i>I. ricinus</i> en Allemagne (Simser <i>et al.</i> , 2002) et en Hongrie (Sréter <i>et al.</i> , 2005a). Les données sur ce pathogène ne sont pas encore suffisantes pour en connaître les réservoirs et le vecteur principal.
Virus Eyach (Coltivirus) Réservoirs : lagomorphes, rongeurs	Homme : désordres neurologiques sévères.	Allemagne, France, Pays-Bas, République Tchèque (Chastel <i>et al.</i> , 1998)
Virus du complexe Kemerovo-Tribec-Lipovnik (Orbivirus) Réservoirs : petits mammifères et oiseaux (Labuda et Nuttall, 2005)	Le virus de Kemerovo est associé à une fièvre à tiques chez l'Homme. La pathogénicité des virus Tribec, Lipovnik et Kharagysh est inconnue.	Virus de Kemerovo : Sibérie occidentale, Slovaquie. Tribec : Slovaquie, Italie, Biélorussie. Lipovnik : Slovaquie, République Tchèque. Kharagysh : Moldavie, ex-URSS (Camicas, 1978 ; Labuda et Nuttall, 2005)

Tableau 4 : Germes de pathogénicité reconnue isolés à partir d'*Ixodes ricinus*, mais pour lesquels *I. ricinus* n'apparaît pas constituer le vecteur principal.

Agent pathogène	Maladie	Répartition
<p>Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (Nairovirus)</p> <p>Vecteur principal : tiques du genre <i>Hyalomma</i></p> <p>Réservoirs : Tiques, petits vertébrés, mammifères domestiques (Wilson <i>et al.</i>, 1990).</p>	<p>Homme : fièvre hémorragique de Crimée-Congo (syndrome hémorragique grave).</p>	<p>Virus d'abord isolé en Afrique. Epidémie en Crimée, Albanie, Kosovo et Russie (entre la mer Noire et la mer Caspienne). Virus également isolé en Bulgarie, Grèce, Hongrie, Macédoine, Portugal, Turquie, Ukraine, Iran, Pakistan, Afrique du Sud (World Health Organization, 2004).</p>
<p>Borrélioses du groupe de la fièvre récurrente</p> <p>Vecteur principal : <i>Ornithodoros</i> sp.</p> <p>Réservoir : rongeurs</p>	<p>Homme : fièvres, frissons, maux de tête, douleurs musculaires, toux, alternance de périodes pendant laquelle la fièvre s'estompe, avortement.</p>	<p>Répartition mondiale de ces bactéries. Les cas sont répartis en Afrique où les vecteurs <i>O. moubata</i> et <i>O. erraticus</i> sont présents.</p> <p>Le transport bactérien par <i>I. ricinus</i> a été mis en évidence en France et en Allemagne (Richter <i>et al.</i>, 2003). Leur transmission à l'Homme et leur pathogénicité reste inconnue.</p>
<p><i>Rickettsia slovaca</i></p> <p>Vecteur principal : <i>Dermacentor marginatus</i></p>	<p>Homme : fièvre avec escarre.</p>	<p>La bactérie été détectée en Slovaquie, Arménie, Autriche, ancienne Tchécoslovaquie, France, Allemagne, Hongrie, Italie, Kazakhstan, Lituanie, Portugal, Russie, Espagne et Suisse.</p> <p>Elle a été isolée à partir d'<i>I. ricinus</i> en Lituanie par Tarasevich (World Health Organization, 2004).</p>

Tableau 4 (suite)

Agent pathogène	Maladie	Répartition
<p><i>Anaplasma marginale</i></p> <p>Vecteur principal : tiques du genre <i>Dermacentor</i> et <i>Amblyomma</i></p> <p>Réservoirs : ruminants (Kuttler, 1984)</p>	<p>Les ruminants sauvages et domestiques sont susceptibles d'être infectés, mais les symptômes les plus sévères sont observés chez les bovins : fièvre, affaiblissement, amaigrissement rapide, constipation, anémie, ictère (mort plus ou moins rapide, guérison possible, mais convalescence longue).</p>	<p>Mondiale.</p>
<p><i>Francisella tularensis</i></p> <p>Transmission directe avec un animal infecté, contact avec l'environnement contaminé, par piqûre</p> <p>Réservoirs : lièvres, petits mammifères</p>	<p>Tularémie.</p> <p>Homme : fièvre ondulante importante, frissons, céphalées, nausées, vomissements, état de prostration. Puis, faiblesse extrême, frissons et sueurs profuses. Apparition d'une lésion cutanée sèche au point d'inoculation.</p> <p>Rongeurs, lièvres et chats peuvent présenter des septicémies mortelles.</p> <p>Equins et Ovins : fièvre, asthénie.</p> <p>(Euzéby, 2002b)</p>	<p>Etats-Unis, Europe (maladie endémique en Finlande et en Suède, pic épidémique au Kosovo).</p> <p>Germe sensible, considéré comme une menace bio-terroriste.</p>
<p><i>Coxiella burnetii</i></p> <p>Contamination par inhalation de particules infectées, mais également par contact avec un animal infecté ou sa production, par piqûre</p> <p>Réservoirs : vertébrés et arthropodes</p>	<p>Fièvre Q ou coxiellose</p> <p>Homme : maladie asymptomatique dans un tiers des cas. Deux types de formes cliniques se distinguent cependant : fébrile pseudo-grippal et respiratoire.</p> <p>Ruminants : métrite, avortement, mises-bas prématurées. Mortalité des jeunes par pneumonie.</p>	<p>Monde, épidémie de fièvre Q sporadique.</p> <p>En France, épidémie de Chamonix (2002) et Florac (2007).</p> <p>Germe sensible. Menace bio-terroriste.</p>
<p><i>Bartonella spp.</i></p> <p>Transmission directe ou vectorielle (puces, tiques ?)</p> <p>Réservoirs : chat (<i>B. hensalae</i> et <i>B. clarridgeiae</i>), Homme (<i>B. quintana</i>), rongeurs, canidés (<i>B. vinsonii</i>), rongeurs (<i>B. grahamii</i>)</p>	<p>Chez l'Homme : maladie des griffes du chat (<i>B. hensalae</i> et <i>B. clarridgeiae</i>), fièvre des tranchées (<i>B. quintana</i>), endocardite (<i>B. vinsonii</i>), neurorétinite (<i>B. grahamii</i>).</p>	<p>Monde (<i>B. hensalae</i> et <i>B. quintana</i>).</p> <p>Amérique du nord et Europe (<i>B. clarridgeiae</i>).</p> <p>Europe (<i>B. vinsonii</i> et <i>B. grahamii</i>).</p>

Tableau 5 : Autres organismes isolés à partir d'*Ixodes ricinus* dont la pathogénicité pour l'Homme n'a pas été mise en évidence.

Agent pathogène	Répartition
Virus Uukuniemi (Bunyaviridae) Réservoirs : oiseaux	Finlande, Estonie, Ukraine, Azerbaïdjan, Pologne, Tchécoslovaquie, Etats-Unis (Camicas, 1978).
Virus Tettang (non classé)	Ancienne Tchécoslovaquie, Allemagne (Camicas, 1978).
Virus Tula (Hantavirus) Réservoirs : campagnols des champs (Kallio-Kokko <i>et al.</i> , 2005)	Les Hantavirus causent des fièvres hémorragiques avec syndrome rénal. Le virus Tula semble asymptomatique chez l'Homme. Russie (Camicas, 1978).
<i>Ehrlichia walkeri</i>	Italie (Brouqui <i>et al.</i> , 2003).
Ehrlichia sp. Variant Schotti Réservoirs : chevreuils	Pays-Bas (Schouls <i>et al.</i> , 1999).
Trypanosomes Filaires	Ces organismes sont potentiellement présents dans <i>I. ricinus</i> en Suisse, mais leur transmission à un hôte n'est pas prouvée (Aeschlimann <i>et al.</i> , 1979).

II Problématiques liées à l'étude de l'abondance de la tique *Ixodes ricinus*

En épidémiologie des maladies vectorielles, les modèles construits concernent soit les maladies transmises ou les agents pathogènes, soit le vecteur lui-même. Ainsi, si le point de vue d'une étude, comme cela est le cas pour la nôtre, est d'évaluer le risque de transmission d'agents pathogènes à partir du vecteur, le cœur de l'analyse portera sur la répartition de ce dernier, en l'occurrence celle d'*I. ricinus*.

L'abondance de cette espèce varie fortement dans l'espace et dans le temps. Les analyses uniquement relatives à la présence/absence du vecteur donnent une idée partielle du risque d'être mordu, car celui-ci dépend de la densité de tiques rencontrées. C'est pourquoi, dans ce chapitre, nous présentons les différentes approches qui ont été utilisées pour modéliser l'abondance des tiques et dégageons les orientations pertinentes pour l'analyse des facteurs qui influencent l'abondance des tiques.

D'abord, l'étude de l'abondance des tiques sous-tend des méthodes de collectes adaptées, les facteurs de variations étant ensuite sélectionnés en fonction de l'échelle d'étude et de la question posée. Enfin, il s'agit de faire le choix d'une modélisation qui tient compte des particularités des données observées.

II.1 La collecte des tiques

L'abondance d'*I. ricinus* peut être comprise, soit en terme d'abondance dans l'environnement, soit en terme d'abondance sur les hôtes. Les deux approches participent à l'évaluation du risque de transmission d'agents pathogènes par *I. ricinus*. L'abondance dans l'environnement reflète un risque de morsure pour tout hôte potentiel des tiques fréquentant les endroits infestés. L'abondance sur les hôtes est utilisée pour déterminer quels types d'individus sont les plus importants pour l'abondance d'*I. ricinus* à l'affût, mais aussi pour comprendre comment circulent les agents pathogènes au sein d'une population réservoir. La détection conjointe d'agents pathogènes chez les hôtes et les tiques gorgées peut servir à déterminer quels sont les individus dont le rôle réservoir est le plus important (Perkins *et al.*, 2003).

Le moment propice à la collecte et à la comparaison de l'abondance d'*I. ricinus* se situe pendant le pic d'activité, déterminé principalement par le climat et la photopériode. Si ces deux paramètres varient sur la zone étudiée, il est nécessaire de répéter l'échantillonnage au cours de la saison afin de connaître la courbe d'activité des tiques sur chaque site. A partir de ces courbes, plusieurs variables peuvent être utilisées dans l'analyse d'abondance suivant les questions posées, telles que le maximum de densité, l'aire sous la courbe, la somme total du nombre de tiques, la date du pic. Si la variation saisonnière se produit de façon synchrone sur la zone étudiée, on peut considérer qu'un échantillonnage pendant le pic d'activité est suffisant. Cependant, d'une année à l'autre, la météorologie peut également influencer le cycle de l'activité d'*I. ricinus* (Gigon, 1985 ; Perret *et al.*, 2000 ; Hubálek *et al.*, 2003a ; Perret *et al.*, 2004)

II.1.1 Dans l'environnement

Plusieurs méthodes sont envisageables pour la collecte des tiques dans l'environnement. Cependant, une méthode a pris le pas sur les autres en raison de sa simplicité : la méthode du drapeau. Cette méthode repose sur l'activité des tiques à l'affût susceptibles de mordre les hôtes.

✱ Méthode du drapeau (Figure 11)

Le « drapeau » est constitué d'une pièce de tissu claire, généralement de 1 m², dans laquelle est passée une tringle munie d'une corde. Le drapeau est tiré par un préleveur marchant d'un pas régulier sur la surface d'expérimentation à échantillonner. Les tiques, leurrées par le drapeau et « croyant » au passage d'un hôte, viennent s'accrocher sur le tissu. A intervalles de temps ou de distance réguliers, définissant les « sous-échantillons » (de surface ou de temps auxquelles on associe un nombre de tiques prélevées), le drapeau est inspecté par le préleveur et les tiques présentes sur le drapeau prélevées et comptées.

L'intérêt de la méthode du drapeau est qu'elle donne une indication sur le risque d'être mordu. Dans l'état actuel des connaissances, cette méthode ne reflète qu'imparfaitement le nombre de tiques en circulation dans le milieu examiné. Ce nombre est en effet biaisé par la densité d'hôtes disponibles et par le rythme de l'alternance des phases d'activité exophiles et des phases de réhydratation au sol des tiques (Figure 13).

Comme toutes les tiques ne sont pas à l'affût en même temps, et que par ailleurs celles qui se sont accrochées peuvent en partie se décrocher, on estime que la méthode du drapeau permet d'échantillonner environ 10% des tiques effectivement présentes au sol (mesures effectuées sur *I. scapularis* et *I. pacificus*, deux espèces proches d'*I. ricinus*, Daniels *et al.*, 2000 ; Tälleklint-Eisen et Lane, 2000). La proportion de 10% est à moduler selon le type de végétation explorée : l'efficacité peut être en effet grandement diminuée dans les broussailles ou dans les hautes herbes, à cause d'un contact plus réduit avec les tiques à l'affût que dans le cas d'herbes de hauteur moyenne. L'efficacité est aussi variable en fonction de la stase. Les larves, qui sont à l'affût moins haut sur les herbes que les adultes et les nymphes, entrent en contact avec le drapeau à la condition que la hauteur de la strate herbacée le permette (Gray, 1985). L'efficacité peut encore varier selon la texture du drapeau qu'il faut, autant que possible, conserver à l'identique tout au long d'une étude.

Une variante de la méthode du drapeau consiste à passer le drapeau à côté de soi en tenant la tringle à bout de bras. La végétation est ainsi « balayée » par le préleveur. Le terme « balayage » est employé en français pour faire référence à cette méthode, qui porte en anglais le nom de « flag-sampling », la méthode basée sur le tirage du drapeau étant appelée « drag-sampling ». Le « balayage » a l'avantage de tenir le préleveur à distance de la surface échantillonnée. Néanmoins, cette méthode est moins efficace vis-à-vis des tiques adultes, qui ont tendance à ne pas rester accrochées au drapeau.

L'effet du préleveur selon la première méthode n'a pas été étudié. Pourtant, tout en marchant devant le drapeau, il produit des stimuli susceptibles d'induire l'activité des tiques. Il est d'ailleurs possible qu'en étant la proie des tiques, il contribue à la dissémination de celles-ci sur la surface du transect. Ceci est d'autant plus vraisemblable pour les larves qui sont moins facilement détectables.



Figure 11 : Collecte des tiques au drapeau.

Un drap est tiré sur une surface de 10 m². Le drap est ensuite inspecté, afin de compter le nombre de tiques et de les prélever (Photos : EPI-A).

Bien souvent les tiques accrochées au drapeau sont prélevées dans le but d'analyser le portage d'agents pathogènes. Dans ce cas, l'échantillonnage est destructif. Il faudrait dans l'absolu tenir compte de cet aspect pour l'évaluation de l'abondance des tiques sur des surfaces échantillonnées à intervalles réguliers. Ceci dit, le taux d'échantillonnage étant de l'ordre de 10%, le taux de prélèvement peut ne pas trop modifier les résultats des comptages si le pas de temps entre deux comptages est suffisamment grand.

La méthode du drapeau est très adaptable et aucune standardisation n'a pour l'instant été proposée. Les chercheurs ont le choix dans la matière utilisée, la définition des surfaces unité ou de temps de passage du drapeau, dans la date de collecte, entre prélever les tiques ou les remettre sur la végétation. Il est donc très important d'utiliser la même méthode tout au long d'une étude. Mais la comparaison des abondances entre études menées par différents groupes de recherche demeurent très délicate.

* Autres méthodes

D'autres méthodes de collecte des tiques ont été testées et comparées :

- La collecte en marchant : les tiques sont récupérées sur une étoffe enserrant la jambe. Cette méthode est plus efficace pour les adultes *I. scapularis* que la méthode du drapeau. En revanche, elle apparaît moins efficace pour les stases larves et nymphes (Schulze *et al.*, 1997).
- Les puits de carbone (sortes de boîtes remplies de glace carbonique qui diffuse du CO₂) : les tiques sont attirées par l'émission de carbone et sont piégées par un ruban adhésif disposé à l'approche de la source de carbone. Cette méthode est efficace pour toutes les stases. Cependant, pour les nymphes, le drapeau semble tout aussi efficace. Le rayon d'action du puits de carbone est, sur 7 jours, au maximum de 3,5 m pour les adultes *I. ricinus* et de 1 m pour les nymphes. Cette méthode, indépendante du substrat végétal, exige néanmoins des moyens logistiques lourds qui limitent en pratique son utilisation (Gray, 1985).
- Echantillons d'humus (prélèvement de la couche superficielle du sol, pour la méthode : Gigon, 1985) : le nombre de tiques récoltées par la méthode est trop faible pour être réellement utilisable (Schulze *et al.*, 1997).
- L'échantillonnage à vue : il est possible de repérer des individus qui sont à l'affût sur la végétation, en particulier sur les tiges de graminées, sur lesquelles la silhouette des adultes se détache assez bien. Cette technique, dont la reproductibilité est difficile à assurer, est essentiellement utilisée à des fins de collection, et non pas à des fins d'analyse de l'abondance.

Etant donné le faible nombre d'adultes récoltables et la difficulté à collecter et évaluer le nombre de larves, l'abondance des nymphes par unité de surface (ou par unité de temps de passage du drap) est, au final, communément utilisée comme estimateur de la densité de la population. L'important est de toujours garder le protocole de collecte à l'identique pour toutes les collectes réalisées.

II.1.2 Sur les hôtes

En pratique, les animaux observés proviennent de sessions de piégeages effectuées pour les besoins d'une étude, ou bien d'animaux tués à la chasse ou sur la route. Dans le cas des animaux trouvés morts, l'inconvénient majeur est que les tiques se détachent

assez rapidement, le risque est alors d'en sous-évaluer l'abondance. Pour réduire ce biais, les animaux sacrifiés peuvent être placés dans des sacs, pour que les tiques qui se détacheraient puissent être récupérées et comptées. Dans le cas où l'on souhaite récupérer les tiques après réplétion, les animaux vivants peuvent être enfermés dans des cages au dessus d'un bassin d'eau, les tiques se détachant tombant ainsi dans l'eau.

On comprendra que, selon la taille des animaux, la quantité et la nature des examens pratiqués soient différents. Par exemple, les micromammifères sont aisément capturés à l'aide de pièges non vulnérants. Un nombre d'individus assez conséquent peut être obtenu en peu de temps, et leur petite taille permet l'examen aisé de l'ensemble de leur cadavre au laboratoire. En revanche, lorsque l'examen doit être effectué rapidement sur le terrain ou sur des animaux de grande taille, celui-ci est limité à quelques parties du corps uniquement. Par exemple, l'examen concernera le bec pour les oiseaux, l'aine pour les bovins (L'Hostis *et al.*, 1994), ou encore les pattes pour les chevreuils (Gilot *et al.*, 1994). Enfin, les stases larvaires et nymphales sont plus difficiles à détecter sur des animaux de grande taille.

II.2 Echelles d'étude et facteurs spatiaux de variation

Lorsque l'on étudie l'abondance des tiques sur les animaux hôtes, l'unité statistique correspondant naturellement à l'animal, les facteurs de variation liés à l'abondance vont concerner des caractéristiques de l'individu hôte (son espèce, son sexe, son âge, son état de santé, son milieu de vie...). En revanche, lorsque l'on étudie la variation de l'abondance des tiques dans l'environnement, l'unité statistique – et les facteurs d'abondance sous-jacents – peut être plus variée. En affectant sa survie et sa reproduction, la température, l'hygrométrie et la présence d'hôtes sont trois facteurs essentiels de la répartition ou de l'abondance des tiques *I. ricinus*. Leur prise en compte dépend notablement de l'échelle d'observation, liée elle-même à l'objectif d'une étude en terme d'étendue, qui peut s'étendre du local au global. Quelque soit l'échelle retenue, il est important d'avoir une résolution des facteurs explicatifs qui correspond à celle de la variable à expliquer.

II.2.1 Echelle biogéographique

L'échelle biogéographique est l'échelle de l'aire de répartition des espèces. A l'équilibre, les facteurs décrivant la répartition d'une espèce correspondent aux conditions limites de sa survie. Tandis qu'aux Etats-Unis, l'aire de répartition d'*I. scapularis* semble encore s'étendre à l'intérieur des terres, au gré du transport par les animaux hôtes qui colonisent les zones nouvellement boisées (Madhav *et al.*, 2004), *I. ricinus* apparaît avoir conquis en Europe les territoires correspondant aux conditions climatiques actuelles permettant sa survie. La répartition des hôtes n'apparaît donc pas comme un facteur limitant en Europe.

Dans les études à l'échelle biogéographique, il est important de disposer de données disponibles sur de larges territoires englobant l'aire de répartition des tiques. Les auteurs utilisent préférentiellement des données satellitaires et des données météorologiques qui sont extrapolables (Estrada-Peña, 1999 ; Estrada-Peña, 2002 ; Brownstein *et al.*, 2003 ; Diuk-Wasser *et al.*, 2006). Les données satellitaires présentent l'avantage d'être disponibles sur toute la surface du globe à des résolutions de l'ordre du kilomètre carré, ce qui facilite l'extrapolation des modèles construits. Les études

d'abondance des espèces du complexe *I. ricinus* à l'échelle biogéographique se basent notamment sur le NDVI (Normalized Difference Vegetation Index), en tant qu'indice de végétation le plus utilisé pour estimer le type de végétation présente sur une surface (Kitron, 1998 ; Estrada-Peña, 1999 ; Eisen *et al.*, 2005 ; Estrada-Peña *et al.*, 2006). La présence d'*I. ricinus* sur le continent européen, et de *I. scapularis* en Amérique du Nord, est liée aux fortes valeurs de NDVI, lesquelles indiquent la présence d'une végétation fournie correspondant aux milieux boisés (Estrada-Peña, 1999 ; Estrada-Peña, 2002). Les températures du sol (estimée par exemple par le capteur AVHRR) sont également prédictives de l'abondance (Estrada-Peña, 1999 ; Estrada-Peña *et al.*, 2006), notamment en référence aux températures hivernales. Par exemple, en Suède, le nombre de jours de gel apparaît constituer un facteur limitant la propagation d'*I. ricinus* vers le nord (Lindgren *et al.*, 2000). Cependant, cette limite septentrionale de la répartition d'*I. ricinus* et de *I. scapularis* a tendance à se déplacer vers le nord en relation avec le réchauffement climatique intervenant à ces latitudes (Lindgren *et al.*, 2000 ; Ogden *et al.*, 2005 ; Ogden *et al.*, 2006).

Le climat affecte les tiques, mais également la répartition des animaux hôtes. Parmi les caractéristiques des espèces altérées par le climat, on peut citer :

- les caractéristiques phénologiques, c'est-à-dire l'ensemble des paramètres biologiques déterminés par les variations saisonnières du climat telles que l'avancée du printemps, recul de l'automne (ex. : migration, hibernation) ;
- les domaines vitaux qui varient selon les isothermes (altitude, latitude) ;
- les traits d'histoire de vie des espèces, tels que la fécondité et la vitesse de développement, qui sont sensibles aux températures.

Actuellement, le déclin marqué des espèces septentrionales reflèterait la redistribution des espèces vers les plus hautes latitudes, par suite du réchauffement climatique (Parmesan et Yohe, 2003). Cependant, le climat, force de changement sur le long terme, peut être contrecarré par des modifications locales, notamment par l'occupation des terres, qui ont une influence marquée à l'échelle de temps d'une vie humaine. L'intégration des effets de ces deux forces de changement sur l'abondance et la répartition des espèces reste un défi pour les scientifiques (Walther *et al.*, 2002).

II.2.2 Echelle « régionale »

L'échelle « régionale » est une échelle intermédiaire entre l'échelle biogéographique et l'échelle locale des processus de répartition des individus de l'espèce. C'est à cette échelle qu'interviennent les instituts de veille et de gestion sanitaires pour donner des conseils de prévention et établir des plans de contrôle des maladies transmises par les tiques. Aux Etats-Unis, le territoire concerné par une étude de risque peut comprendre plusieurs états. En référence à la situation française, la résolution des études menées à l'échelle nationale peut être régionale, départementale ou cantonale.

L'échelle « régionale » est généralement focalisée dans une zone où le climat est favorable à l'installation de l'espèce. En revanche, il s'agit de mettre en évidence le microclimat le plus adapté.

Les données satellitaires sont encore pertinentes à l'échelle « régionale » grâce à leur bonne résolution (Daniel *et al.*, 1998 ; Randolph *et al.*, 2000). Les facteurs climatiques

sont également des facteurs de variation appropriés, par exemple, en France, le climat alsacien favorise la transmission de l'encéphalite à tiques (Pérez-Eid, 2001).

Tableau 6 : Groupes d'espèces végétales indicateurs de l'abondance de la tique *Ixodes ricinus* dans le Jura méridional, d'après Gilot *et al.* (1979).

Pour que la prédiction soit efficace, les espèces indicatrices doivent être très communes et facilement identifiables à l'époque où l'on trouve des tiques. Une heure de balayage au drapeau correspond environ à une surface de 2000 m². Gilot *et al.* (1979) ne précisent pas la stase des individus collectés.

Groupe d'espèces indiquant une abondance élevée d'<i>Ixodes ricinus</i>.	Groupe d'espèces indiquant une abondance moyenne d'<i>Ixodes ricinus</i>.
(moyenne de 28 individus par heure de balayage au drapeau)	(moyenne de 5 à 10 individus par heure de balayage au drapeau)
<i>Carpinus betulus</i> (Charme), <i>Tilia sylvestris</i> (Tilleul), <i>Fraxinus excelsior</i> (Frêne), <i>Asperula odorata</i> (Aspérule odorante), <i>Vinca minor</i> (Petite Pervenche), <i>Euphorbia dulcis</i> (Euphorbe), <i>Daphne laureola</i> (Laurier des bois), <i>Allium ursinum</i> (Ail des ours), <i>Stellaria holostea</i> (Stellaire holostée), <i>Ilex aquifolium</i> (houx), <i>Sanicula europaea</i> (Sanicle)	<i>Acer campestre</i> (Erable champêtre), <i>Polygonatum officinale</i> (Sceau de Salomon), <i>Euphorbia sylvatica</i> (Euphorbe), <i>Helleborus foetidus</i> (Hellébore fétide, Pied-de-griffon), <i>Phyteuma spicatum</i> (Raiponce en épi), <i>Paris quadrifolia</i> (Parisette), <i>Arum maculatum</i> (Arum tacheté), <i>Lamium galebdolon</i> (Lamier jaune, Ortie jaune), <i>Glechoma hederacea</i> (Lierre terrestre), <i>Campanula trachelium</i> (Campanule gantelée), <i>Ajuga reptans</i> (Bugle rampante), <i>Salvia glutinosa</i> (Sauge visqueuse), <i>Hedera helix</i> (Lierre), <i>Melittis melissophyllum</i> (Mélisse sauvage), <i>Mercuri perennis</i> (Mercuriale vivace), <i>Alliaria officinalis</i> (Alliaire), <i>Fragaria vesca</i> (Fraisier des bois)

L'échelle « régionale » donne aussi la possibilité de croiser l'abondance de tiques avec des cartes de végétation, d'altitude, ou de densités d'animaux hôtes. Gilot *et al.* (1979) ont ainsi montré que les cartes de végétation pouvaient constituer un fil conducteur pour la détection des populations d'*I. ricinus*, espèce exophile étroitement dépendante des conditions environnementales. Le découpage en zones écologiques homogènes, utilisé par Gilot *et al.* (1979) pour la fabrication des cartes de végétation, est réalisé de façon à favoriser l'étude des populations animales car il est basé sur une approche approfondie des conditions du milieu dont la végétation est révélatrice (climat, sol, régime hydrique, biocénoses animales). Ainsi, dans le Jura méridional, *I. ricinus* est abondante dans les groupements forestiers correspondant au climax, avec des

différences selon la série de végétation (l'abondance d'*I. ricinus* étant plus importante dans la série du chêne à charme typique, Gilot *et al.*, 1979). *I. ricinus* est bien représentée également dans les haies suffisamment touffues et de frondaison suffisamment grande pour que s'accumule sur le sol une riche litière. En revanche, elle est peu fréquente dans les milieux prairiaux. Dans ces milieux, on la retrouve surtout dans les prairies fraîches à *Ranunculus repens*, (plante indicatrice des prairies fraîches, Ducerf et Thiry, 2003), où son activité est de courte durée (Gilot *et al.*, 1975b). Certaines espèces végétales, notamment le charme et le tilleul, semblent indicatrices de l'abondance d'*I. ricinus* dans le contexte du Jura méridional, (Tableau 6). Finalement, la cartographie végétale permet la localisation des populations de tiques sur de vastes territoires.

II.2.3 Echelle locale

L'échelle locale est l'échelle des processus de répartition des individus de l'espèce au travers de la réalisation de son cycle biologique. Ces processus sont multiples (processus d'activité exophile, déplacement des tiques par les hôtes) et leurs ordres de grandeur spatiale ou temporelle peuvent être très différents. La principale difficulté est donc, à ce niveau, de caractériser les variables reflétant au mieux les processus de répartition des individus. La représentativité des études menées au niveau local est également une question récurrente.

A l'échelle locale, seuls certains éléments des associations végétales (ou facettes), constituent les biotopes à *I. ricinus*. Gilot *et al.* (1975a) observent à ce propos :

- s'il existe des zones dépressionnaires à immersion de courte durée, *I. ricinus* se trouve dans les parties supérieures de ces zones ;
- *I. ricinus* trouve refuge dans les litières épaisses où l'hygrométrie est élevée ;
- lorsque la roche mère affleure, l'endroit est peu favorable à *I. ricinus* ;
- la présence d'une double strate végétale est particulièrement favorable à *I. ricinus* ;
- la dégradation totale du milieu boisé, où le couvert végétal est détruit, conduit à une diminution du nombre d'*I. ricinus*,
- la dégradation partielle du milieu boisé induit un enrichissement de la litière, lequel est favorable à *I. ricinus*.

Hygrométrie et température au niveau du sol, drainage du sol, épaisseur de la couche superficielle du sol, végétation, constituent des facteurs qui peuvent être utilisés pour tenter de caractériser l'abondance des tiques à l'échelle locale. Or, dans certains cas, toutes les conditions semblent réunies pour aboutir à une forte abondance d'*I. ricinus*, alors qu'aucune activité de la tique n'est décelée. Plusieurs éléments peuvent expliquer cette contradiction (Gilot *et al.*, 1975a) :

- l'activité d'*I. ricinus* est fugitive dans les milieux peu favorables ;
- l'échantillonnage n'a pas été réalisé pendant le pic d'activité, lequel peut être décalé ;
- la connaissance de la répartition des hôtes est insuffisante ;
- la connaissance de la biologie des tiques est insuffisante ;

- *I. ricinus* présente une élasticité biologique, une forte capacité d'adaptation à la frontière des milieux favorables.

L'observation de la présence des animaux hôtes est souvent difficile à mener, surtout bien sûr pour les animaux sauvages. Le contexte végétal et paysager peut donc être considéré comme un substitut des variables indicatrices de la présence d'hôtes ou du microclimat, mais il agit de manière indirecte sur l'abondance environnementale des tiques.

II.3 Modélisation de l'abondance

II.3.1 Types de modèles

Les classifications des modèles sont nombreuses, chacune cherchant à souligner des propriétés particulières de types de modèles. Nous avons choisi de développer ici la classification retenue par Kitron et Mannelli (1994), qui, pour présenter les modèles qui ont cours en épidémiologie, séparent les modèles de types mécanistes (« process models ») des modèles de types probabilistes (« associative models »). Les premiers décrivent des processus dans lesquels les mécanismes les plus importants sont mis en avant. Les seconds mettent en relation des variables, ils rassemblent des données, et permettent leur analyse et leur représentation. L'objectif commun de ces types de modèles, dans le cadre de l'étude du vecteur, est de mettre en lumière les éléments qui influencent la répartition ou l'abondance du vecteur.

II.3.1.1 Modèles mécanistes

Les modèles mécanistes visent à représenter, en partie ou en totalité, le cycle de vie du vecteur, en explicitant les relations existants entre les différents éléments du système. Ils permettent en outre d'explorer la stabilité de ces relations et leur rapport à l'ensemble du système, en se basant sur un ensemble d'équations. Les relations fonctionnelles représentées par ces équations peuvent faire intervenir les paramètres sous forme de constantes ou sous forme de variables aléatoires. Si aucune variable aléatoire n'intervient dans le modèle, celui-ci est déterministe, sinon il est dit stochastique.

Les cycles de vie d'*I. ricinus* et d'*I. scapularis* ont été décomposés dans toute leur complexité respectivement par Randolph et Craine (1995) et par Ogden *et al.* (2005). Dans leurs travaux, ces auteurs ont quantifié chaque paramètre, et ont identifié ceux à propos desquels ils manquaient de connaissances. A partir de là, ils ont proposé une modélisation mécaniste dont ils se sont servi pour identifier les paramètres les plus importants dans la réalisation du cycle biologique des tiques (Figure 12).

Ce type de modèles, qui sont une représentation dynamique du cycle de vie d'*I. ricinus*, est plus souvent utilisé pour décrire la distribution temporelle des tiques (Gardiner *et al.*, 1981 ; Gardiner et Gettinby, 1983 ; Vassallo *et al.*, 2000a). L'inconvénient de ces modèles est qu'ils dépendent trop de paramètres dont les valeurs sont délicates à estimer. Ainsi, ils sont généralement assez peu prédictifs en ce qui concerne les valeurs quantitatives du système. Il faut cependant noter qu'en utilisant une modélisation mécaniste, Ogden *et al.* (2005) ont réussi une simulation très réaliste de la saisonnalité d'*I. scapularis*.

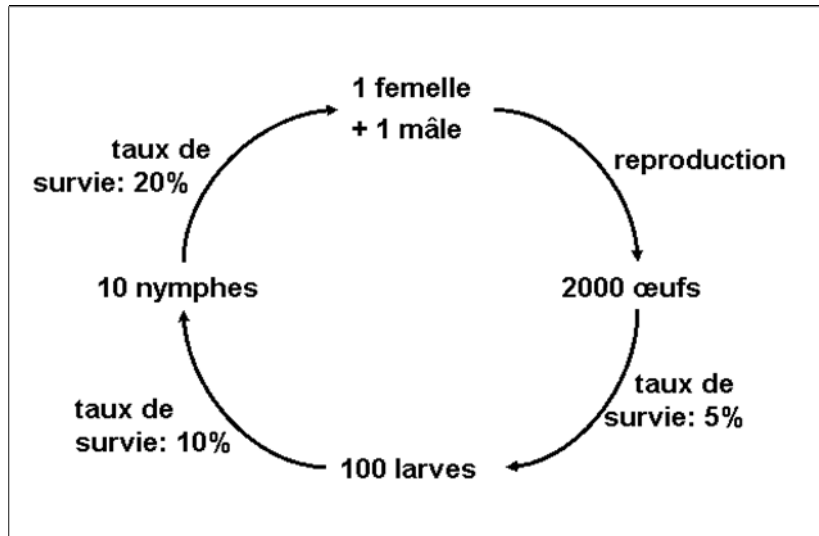


Figure 12 : Exemple de modélisation mécaniste des taux de survie d'*Ixodes ricinus* d'une stase à l'autre (d'après Randolph, 2005).

II.3.1.2 Modèles probabilistes

Basés sur des lois de probabilité, les modèles probabilistes associent une variable à expliquer (présence/absence, abondance, prévalence) à des facteurs de variation. La mise en œuvre de tels modèles implique en conséquence de pouvoir disposer de larges jeux de données acquis en situation réelle. En fait, la modélisation probabiliste ne permet pas d'inférer sur les mécanismes mis en cause dans la répartition des individus d'une espèce, mais uniquement sur leurs effets ; cette approche, bien que descriptive et faisant parfois ressortir des relations fortuites entre les entités, favorise la précision et permet de coller le plus possible à la réalité. Quant à la généralisation d'un modèle probabiliste, elle ne peut être réalisée que si les « bons facteurs » sont pris en compte dans le modèle. Selon Guisan *et al.* (2000), il existe trois types de facteurs qui peuvent influencer la répartition et l'abondance d'une espèce :

- les ressources : matières, ou les énergies, consommées par les organismes vivants. Dans le cas d'*I. ricinus*, ce sont les animaux hôtes (Figure 13) ;
- les facteurs directs : paramètres environnementaux qui ont une influence physiologique sur l'activité et la viabilité des organismes (ex. pour *I. ricinus* : température, hygrométrie) ;
- les facteurs indirects : facteurs n'ayant pas d'influence physiologique directe (ex. : la topologie). Ces facteurs ont essentiellement un impact local, car les tiques ont tendance à compenser des différences climatiques régionales en sélectionnant des micro-habitats comparables qui ne présentent pourtant pas les mêmes caractéristiques topographiques.

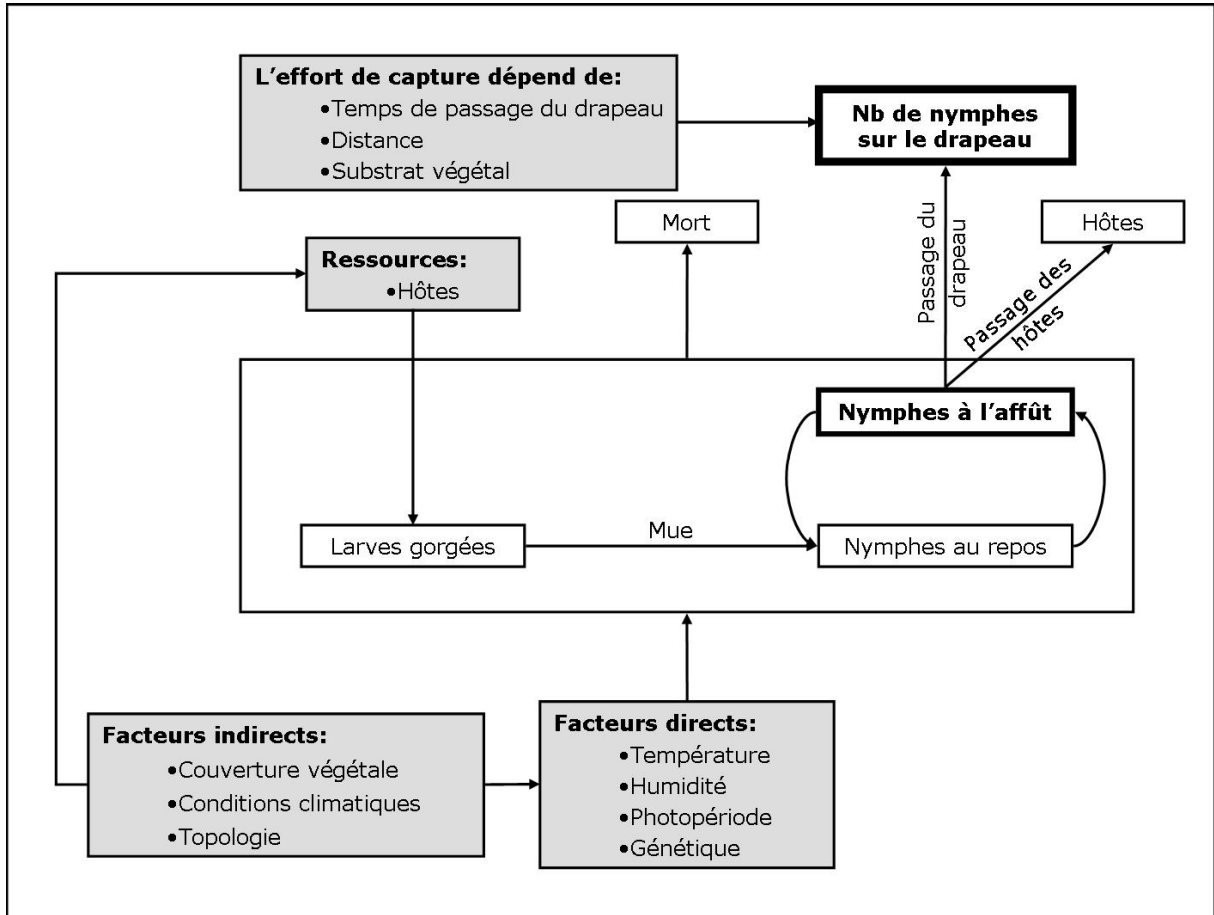


Figure 13 : Facteurs intervenant sur le nombre de nymphes collectées au drapeau (adapté d'après Guisan et Zimmermann, 2000).

Comme l'indique ce schéma, la collecte des nymphes dépend de nombreux paramètres très aléatoires. Ainsi, pour qu'il y ait des nymphes au sol, il a fallu auparavant que des larves se nourrissent sur des animaux hôtes, dont la densité dépend elle-même de facteurs indirects de type couverture végétale, conditions climatiques, météorologiques et topologie. Ensuite, la tique (larve ou nymphe) est elle-même dépendante de facteurs qui l'affectent directement, tels que la température, l'humidité, la photopériode ou la génétique. Si elles survivent, les nymphes à l'affût peuvent s'agripper, soit sur le drapeau, soit sur des hôtes de passage. Enfin, le dernier critère déterminant le nombre de nymphes collectées, est l'efficacité du drapeau reliée au temps de passage, à la distance parcourue et au substrat végétal.

Les modèles probabilistes sont par nature statiques. Ils sont spécifiés pour rendre compte de l'état d'un système observé à un moment donné, cet état étant représenté par la mesure d'une variable dont on essaie d'approcher la loi de probabilité. Les phénomènes dynamiques, comme la diffusion d'une espèce, l'organisation en métapopulation, pourraient constituer des freins à l'utilisation de ces modèles. Cependant, il est possible d'adapter les lois de distributions au phénomène étudié. Ainsi,

si l'on juge qu'une population présente trop peu d'individus pour pouvoir coloniser l'espace favorable disponible (et échantillonné), on peut adapter une loi de distribution à classe zéro augmentée (Desouhant *et al.*, 1998 ; Potts et Elith, 2006). Il est possible également de prendre en compte, dans le modèle, des variables explicatives dynamiques (ex. : températures journalières). De telles variables, si leur degré de corrélation avec la variable à expliquer est fort et que celui-ci reflète effectivement un lien de cause à effet, permettent une bonne prédiction de la distribution d'une espèce.

La description de la distribution du nombre d'*I. ricinus* via des lois de distributions paramétriques n'est pas nouvelle. L'un des premiers à avoir tenté cette approche est Milne (1943) dans une étude portant sur le comptage des tiques sur des moutons. Cette approche a été utilisée, aussi bien pour décrire la charge parasitaire que le nombre de tiques à l'affût sur la végétation. L'utilisation des tests non paramétriques, tels que les tests de Wilcoxon, de Kruskal-Wallis ou encore le test de la somme des rangs, ont également permis de mettre en évidence l'effet de facteurs sur l'abondance des tiques (Tableau 7). Les tests non paramétriques nécessitent moins d'hypothèses a priori sur la distribution des variables que les tests paramétriques et sont à ce titre très robustes. Cependant, ils sont basés sur des caractéristiques de la distribution (ex. : rangs, médiane) et non sur la distribution elle-même. Au contraire, les lois de probabilité, si elles s'ajustent correctement aux données, permettent la prise en compte de la totalité de la distribution.

Tableau 7 : Exemples de références ayant recours à une modélisation probabiliste de l'abondance des tiques du complexe *Ixodes ricinus*.

Tri effectué par espèce de tiques et par année de publication.

Collecte	Méthode statistique	Référence type
<i>Ixodes ricinus</i>		
moutons	loi binomiale négative	(Milne, 1943)
rongeurs	loi binomiale négative	(L'Hostis <i>et al.</i> , 1996)
rongeurs	loi binomiale négative	(Randolph <i>et al.</i> , 1999)
végétation	tests non paramétriques	(Zeman et Daniel, 1999)
lagopèdes d'Ecosse	Poisson lognormal	(Elston <i>et al.</i> , 2001)
végétation	transformation en $\ln(x+1)$ du nombre de nymphes, analyse de la variance	(Estrada-Peña, 2001)
végétation	régression linéaire multiple	(Hubálek <i>et al.</i> , 2003a)
renards	loi binomiale négative	(Sréter <i>et al.</i> , 2005b)
rongeurs	statistiques descriptives uniquement (prévalence de l'infestation et moyenne du nombre de tiques transportées)	(Sinski <i>et al.</i> , 2006)

Tableau 7 (suite)

Collecte	Méthode statistique	Référence type
<i>Ixodes scapularis</i>		
végétation	analyse de la variance, tests non paramétriques, indice de dispersion (variance/moyenne)	(Ostfeld <i>et al.</i> , 1996)
végétation	tests non paramétriques et modèle log-linéaire	(Carroll <i>et al.</i> , 1992)
végétation	analyse de la variance, tests non paramétriques	(Schulze <i>et al.</i> , 2001)
végétation	analyse de la variance, indice de dispersion (variance/moyenne)	(Schulze <i>et al.</i> , 2002)
chevreuils	Poisson lognormal	(Das <i>et al.</i> , 2002)
végétation	Poisson lognormal	(Bunnell <i>et al.</i> , 2003)
végétation	Indice de Moran, indice de Lloyd	(Pardanani et Mather, 2004)
<i>Ixodes pacificus</i>		
végétation	régression linéaire	(Eisen <i>et al.</i> , 2003)
lézards, rongeurs et oiseaux	tests non paramétriques	(Eisen <i>et al.</i> , 2004)
végétation	modèle de classification supervisée, indice de Moran, modèle de régression	(Eisen <i>et al.</i> , 2006)

II.4 L'agrégation des individus de l'espèce *Ixodes ricinus*

La distribution des tiques est inévitablement complexe, au vu du nombre de facteurs intriqués qui l'influencent (Milne, 1943). La principale caractéristique de cette distribution est l'agrégation, ce qui signifie que par rapport à une distribution caractérisée par le hasard uniquement, et modélisée à ce titre par une loi de Poisson, la distribution d'*I. ricinus*, parmi les hôtes (ou sur le sol), est agrégée, avec une majorité de parasites sur une minorité d'hôtes (ou d'unité de surface) (Wilson *et al.*, 2001). Une agrégation induit une auto-corrélation spatiale des données, les valeurs similaires de la variable (nombre de tiques par hôte ou par unité de surface) étant regroupées dans l'espace.

II.4.1 Caractéristique de l'agrégation

De façon générale, la distribution des parasites doit être caractérisée par le nombre d'individus statistiques observés, par la prévalence de l'infestation, par la moyenne de l'abondance et, si possible, par des intervalles de confiance de la moyenne tenant compte de l'agrégation (Rozsa *et al.*, 2000). Notons que dans les cas d'agrégation, les écarts-types ne sont pas informatifs, car ils sont trop larges pour pouvoir déceler une différence de distribution entre deux échantillons.

La mesure de l'agrégation dépend du cadre de référence dans lequel on se place. Ainsi, Boulinier *et al.* (1996) ont mesuré l'agrégation des *Ixodes uriae* sur les poussins de mouettes. Ils ont décomposé la variance en une variance inter-nids et une variance intra-nids. Ils ont observé que l'agrégation se situait sur les poussins issus des mêmes nids lorsque l'abondance des tiques était forte. En revanche, l'agrégation se situait entre les poussins de nids différents lorsque l'abondance était faible. De la même manière, l'agrégation spatiale des densités de tiques *I. scapularis* à l'affût ressort à petite échelle au niveau des jardins de particuliers, mais n'est pas détectée entre jardins (Pardanani et Mather, 2004).

Les processus d'agrégation ont une implication directe sur le cycle de vie du parasite et sur la transmission des agents pathogènes vectorisés. En effet, l'agrégation facilite les rencontres entre mâles et femelles. Par ailleurs, au niveau des hôtes, l'agrégation focalise la transmission des agents pathogènes sur les individus les plus réceptifs (Hughes et Randolph, 2001 ; Perkins *et al.*, 2003).

II.4.2 Causes de l'agrégation

Il existe trois causes fondamentales à l'agrégation des parasites parmi les hôtes (Combes, 2001) :

- 1) le parasite se multiplie après avoir infesté l'hôte, ce qui n'est pas le cas des tiques ;
- 2) la population d'hôtes constitue un ensemble hétérogène vis-à-vis du parasite. Cette proposition est valide dans le cas d'*I. ricinus*. Nous savons par exemple que les mâles sont globalement plus parasités que les femelles, car les hormones jouent un rôle dans la régulation de la réponse immunitaire, dans la régulation de l'expression de gènes impliqué dans le mécanisme infectieux, ou encore au niveau du comportement (mâles plus combattifs, plus conquérants que les femelles, Klein, 2004). Ceci revient à dire que la distribution du nombre de tiques sur l'ensemble d'une population hétérogène (ex. : mâles et femelles mélangés) est plus agrégée que les distributions sur des sous-ensembles homogènes (ex. : mâles et femelles séparés, Shaw *et al.*, 1998) ;
- 3) la distribution des stades infestant est déjà agrégée et se répercute sur l'infestation des hôtes. Cette proposition est également valide dans le cas de la tique *I. ricinus*, qui n'est pas distribuée aléatoirement sur la végétation.

Pour l'agrégation des tiques à l'affût, il existe des causes multiples que nous détaillons ici. Une partie de ces causes sont relatives au cycle d'*I. ricinus*, une autre partie à la méthode d'étude employée.

II.4.2.1 Agrégation intrinsèque à la biologie d'*I. ricinus*

Une étude en laboratoire, portant sur les mouvements verticaux des nymphes *I. ricinus*, a montré que celles-ci pouvaient parcourir des distances de l'ordre d'une dizaine de mètres en une nuit (Perret *et al.*, 2003). Cependant, en milieu naturel, *I. ricinus*, à l'instar de sa cousine d'Amérique du Nord *I. scapularis*, ne se déplace pas par elle-même sur de grandes distances horizontales. Les nymphes seraient capables de parcourir au plus 1 m par semaine et les adultes 3,5 m (Gray, 1985). Quant aux larves *I. ricinus*, il est vraisemblable qu'elles restent groupées dans un rayon de deux mètres au maximum du point où elles ont éclos (Stafford, 1992).

Dans un premier temps, la distribution d'*I. ricinus* dépend donc des déplacements des animaux hôtes et du moment où les tiques se détachent. Comme une adulte femelle donne naissance à un grand nombre de larves qui ne se dispersent pas, la distribution est forcément agrégée. Pour les nymphes et les adultes, la dispersion par les hôtes brise cette agrégation initiale, sans pour autant la faire disparaître complètement (Milne, 1943).

Dans un deuxième temps, le nombre de tiques à l'affût découle du nombre de tiques ayant survécu aux conditions microclimatiques de l'endroit où elles sont tombées. Ces conditions peuvent varier à l'échelle du mètre carré et concourent au regroupement apparent des tiques là où elles ont le mieux survécu.

A cette échelle également, peut avoir lieu des regroupements « actifs » des tiques. En effet, les tiques répondent aux phéromones de regroupement qu'elles libèrent. Cependant, la portée de ces phéromones est inconnue. On sait simplement, qu'au niveau des fèces d'*I. ricinus* est présente une phéromone qui induit l'arrêt du déplacement des tiques qui la rencontrent, d'où la formation d'agrégats (Sonenshine, 2005).

Par ailleurs, l'activité des tiques est un phénomène dynamique qui s'inscrit dans le temps. L'échelle de temps est l'année pour les pics d'activité, et la journée pour l'alternance des phases d'affût et des phases de repos. Ces processus contribuent à l'observation d'agrégats de tiques.

II.4.2.2 Agrégation intrinsèque à la méthode

* *Collecte au drapeau*

La mesure au drapeau du nombre de tiques à l'affût sur la végétation dépend du nombre de tiques à l'affût et de l'efficacité de la méthode. Nous avons vu précédemment que les tiques à l'affût n'étaient pas distribuées aléatoirement. Supposons cependant à titre illustratif que ce soit le cas, l'efficacité du drapeau n'étant pas de 100%, elle induit à elle seule une variabilité de mesure, qui implique que la distribution de la variable mesurée ne suit pas une loi de Poisson (p.317, Cameron et Trivedi, 1998).

* *L'étude en milieu naturel*

Malgré l'effort effectué pour tenir compte d'un grand nombre de facteurs, la complexité du milieu naturel est difficilement réductible. Les facteurs sont intriqués et corrélés entre eux, et il existe des interactions.

II.4.3 Mise en évidence et modélisation de l'agrégation

Lorsque les distributions sont agrégées, comme c'est le cas pour les tiques sur la végétation ou sur les hôtes, l'interprétation de la moyenne est très difficile car l'écart-type est très grand. La moyenne change du tout au tout suivant que l'on échantillonne un endroit plutôt qu'un autre et donc sa signification est faible. Pour pouvoir extraire des statistiques qui décrivent correctement la distribution, il faut multiplier les échantillons (Petney *et al.*, 1990 ; Wilson *et al.*, 2001).

En terme statistique, l'agrégation se traduit en une « surdispersion » des paramètres par rapport à une loi de Poisson. Pour caractériser la surdispersion, certains auteurs

utilisent l'indice de dispersion qui est le rapport de la variance V à la moyenne M (Ostfeld *et al.*, 1996 ; Vassallo *et al.*, 2000b ; Schulze *et al.*, 2002). Cet indice est basé sur le fait que pour une distribution de Poisson, l'espérance et la variance sont égales. L'hypothèse testée est H_0 : « La distribution spatiale des tiques est poissonnienne sur une surface donnée », contre l'hypothèse H_1 : « La distribution des tiques présente une surdispersion par rapport à la loi de Poisson ». L'indice de dispersion s'écrit :

$$I = \frac{V}{M}$$

Il est calculé pour un échantillon de N individus statistiques choisis au hasard. $(N-1)I$ suit une loi de distribution du χ^2 à $N-1$ degré de liberté. Si I est significativement supérieur à 1, alors la distribution est surdispersée.

Lorsque les données sont spatialisées, d'autres outils permettent également de mettre en évidence l'agrégation (Gay, 2006).

Traditionnellement, la transformation logarithmique a souvent été employée dans le but de normaliser les données (Carroll *et al.*, 1992 ; Estrada-Peña, 2001). Cependant, si la distribution est très agrégée, cette transformation ne donne pas de résultats satisfaisants. L'ajustement de Modèles Linéaires Généralisés (GLM) donne de meilleurs résultats (Wilson *et al.*, 1996 ; Wilson et Grenfell, 1997). En ce sens, la loi de probabilité binomiale négative paraît bien adaptée (Shaw et Dobson, 1995 ; Shaw *et al.*, 1998). Cependant, on pourra trouver dans les articles de Ridout *et al.* (1998) et Hinde et Demétrio (1998) un ensemble d'adaptations des GLM (différent de la loi binomiale négative) qui permettent de prendre en compte la surdispersion (ex. : distribution à classes zéro-augmentées, mélanges de distributions, loi de Poisson tronquée).

III Conclusion de l'étude bibliographique

Le cycle de vie triphasique d'*I. ricinus*, qui fait intervenir trois hôtes d'espèces potentiellement différentes, est particulièrement complexe. Les différents éléments du cycle se décomposent dans des échelles d'espace et de temps variées, entre lesquelles les liaisons ne sont pas toujours évidentes. Par exemple, l'échelle du déplacement des hôtes est bien plus grande que l'échelle microclimatique conditionnant la survie de la tique, ou encore, la période de l'activité des tiques s'étale sur plusieurs semaines, alors que les phases où les tiques sont à l'affût sur la végétation alternent avec les phases de repos dans une même journée. Tous ces niveaux agissent de concert sur la répartition et l'abondance d'*I. ricinus*, mais l'échelle d'étude doit être adaptée aux questions posées, de même que le type de modélisation utilisée.

Dans un paysage peu étudié tel que l'interface bois-pâturage dont il va être question dans la suite de la thèse, la modélisation probabiliste semble la plus adaptée pour une première approche de l'abondance d'*I. ricinus*, tant sur la végétation que sur les hôtes. En effet, nous ne disposons pas d'estimation de suffisamment de paramètres pour envisager une modélisation mécaniste en première approche. Des précautions sont néanmoins à prendre en ce qui concerne la modélisation probabiliste utilisée à l'échelle d'un paysage car, en raison de l'implication de nombreux facteurs, la question de la représentativité des études locales est cruciale.

Notre brève étude bibliographique souligne l'importance des facteurs environnementaux dans la répartition et l'abondance d'*I. ricinus* à l'affût sur la végétation. En effet, *I. ricinus* passe la majeure partie de son temps dans l'environnement, et la répartition des hôtes, d'où tombent les tiques gorgées, est liée aux habitats disponibles. Les études portant sur l'abondance des tiques sur la végétation concourent à estimer le risque acarologique, qui pour l'Homme est particulièrement liée à la stase nymphale. Les études portant sur les tiques des hôtes peuvent revêtir un aspect plus fonctionnel en cherchant à comprendre comment interagissent les différents éléments qui composent le risque.

2^{ème} partie :
Etudes éco-
épidémiologiques

Inféodée aux milieux boisés, *Ixodes ricinus* trouve également refuge dans les microhabitats humides des milieux plus ouverts. Lorsqu'il s'agit de prairies permanentes pâturées, les bovins sont susceptibles de relayer les animaux sauvages dans le nourrissage des tiques et permettre ainsi leur renouvellement. Lorsque le milieu s'y prête, les échanges de tiques peuvent avoir lieu entre les animaux sauvages et les bovins. La pâture est donc un lieu idéal d'observation de la circulation des tiques et des agents pathogènes transmis par les tiques entre faune sauvage et animaux domestiques en relation avec l'Homme.

Afin d'évaluer le risque de transmission de maladies vectorisées par les tiques sur les pâtures, l'unité d'Epidémiologie Animale de l'INRA de Clermont-Ferrand – Theix a mis en place depuis 2003 des collectes de tiques sur des prairies permanentes pâturées par des bovins dans deux zones modèles d'Auvergne représentatives d'une région d'élevage bovins allaitants.

Les variables environnementales prises en compte pour expliquer les variations d'abondance des populations de tiques *I. ricinus* étaient des variables paysagères ou météorologiques, le but étant, dans un premier temps, de relier les variations d'abondance des tiques à des éléments concrets facilement obtenus par tout un chacun (données météo France, éléments paysagers...). Ce premier volet d'étude a montré l'importance de la présence d'éléments boisés proches des pâtures pour favoriser l'abondance de tiques. L'hypothèse d'une circulation des tiques du bois vers les pâtures a été émise. Dans un deuxième temps, nous avons intégré des variables concernant les animaux hôtes des tiques à une résolution plus fine afin d'étudier la circulation des tiques via une catégorie d'hôtes des larves : les micromammifères. Ces animaux ne sont pas les seuls hôtes des tiques, mais ils présentent l'avantage d'être présents à l'écotone bois-pâturation et d'avoir des domaines vitaux pouvant s'inscrire dans un espace défini par la pâture et par une bande large de 100 m qui en ferait le tour. Du point de vue de la circulation des agents pathogènes, les micromammifères sont également très intéressants, car ils sont réservoirs de plusieurs zoonoses. Cette étude a concerné quatre pâtures, choisies selon des critères mis en place à partir de l'étude précédente.

L'objectif de la seconde partie du mémoire de thèse est de présenter les résultats de l'ensemble des analyses et modélisations concernant les facteurs d'abondance d'*I. ricinus* qui ont été mises en œuvre au sein de l'Unité d'Epidémiologie Animale, à partir des collectes de tiques réalisées dans l'environnement et sur les micromammifères.

I Présentation générale des études éco-épidémiologiques menées dans le cadre de la thèse

I.1 Caractéristiques des zones modèles

I. ricinus est habituellement inféodé aux milieux boisés de l'étage collinéen. Afin d'étudier sa présence sur les pâtures, nous avons travaillé au sein d'une première zone d'étude, les Combrailles qui est située principalement dans le Puy-de-Dôme et inclut des sites boisés et nombre d'élevages bovins. La présence d'*I. ricinus* y est avérée et les maladies véhiculées par cette tique sont considérées comme endémiques (Brun, 2000). La deuxième zone modèle, située dans un autre département auvergnat, le Cantal, est

également une zone où l'endémicité des maladies transmises par les tiques est documentée (Dabertrand, 2003), et où par ailleurs l'élevage bovin est dominant, à l'instar des Combrailles.



Figure 14 : Situation des deux zones d'étude modèles en Auvergne.

I.1.1 Les Combrailles

La zone des Combrailles a donc été choisie en raison du taux important de maladies véhiculées par les tiques recensées dans cette région, telles que la maladie de Lyme pour l'Homme (Arzouni, 1990) et la babésiose pour les bovins (d'après une pré-enquête téléphonique, nous avons recensé 4 cas de babésiose en 2002 sur un total de 208 vaches laitières et 2886 vaches allaitantes, Augé-Sabatier, 2005). La région des Combrailles,

située au nord ouest de Clermont-Ferrand (Figure 14), regroupe sept cantons du département du Puy-de-Dôme, soit les cantons de Montaigut, Pionsat, Menat, Saint-Gervais d'Auvergne, Manzat, Pontaumur et Pontgibaud.

Composée de montagnes cristallines, la région des Combrailles bénéficie d'un climat à tendance océanique impliquant des précipitations de 800 à 1000 mm par an, qui sont réparties assez régulièrement au cours de l'année, avec cependant un pic hivernal sur les zones d'altitude élevée, un pic automnal sur les plateaux, et des minima d'été. Bien que la chaîne volcanique des Puys, qui fait partie du Massif Central, soit située à proximité des Combrailles, le relief de la zone d'étude est plutôt de type collinaire et peu accidenté, l'altitude moyenne se situant autour de 600 m. La vallée de la Sioule traverse les Combrailles, qui connaît par ailleurs des hivers rigoureux et des étés plutôt frais dans les hauteurs, et assez chauds dans les vallées. Pour ce qui est de la température moyenne, elle diminue avec l'altitude d'environ 1°C quand on s'élève de 180 m. Le relief tourmenté de l'Auvergne favorise les contrastes thermiques importants : l'amplitude thermique peut ainsi atteindre jusqu'à une vingtaine de degrés en 12 heures.

L'agriculture dans les Combrailles est essentiellement dédiée à l'élevage extensif de ruminants, en particulier à celui des vaches allaitantes, le paysage se composant principalement de prairies et de bois propices au développement des populations de tiques. La région des Combrailles, en tant que zone de bocage et d'élevage, se caractérise enfin par une forte proximité entre animaux domestiques, faune sauvage et populations humaines.

I.1.2 L'Ouest Cantal

D'après Dabertrand (2003), les cantons du département du Cantal les plus touchés par la maladie de Lyme sont ceux qui sont limitrophes du département de la Corrèze. En conséquence, la région ouest du Cantal a été choisie comme seconde zone d'étude, cette région ayant par ailleurs d'assez fortes similitudes écologiques avec la région des Combrailles. L'Ouest Cantal est alimenté par d'abondantes précipitations venues de l'Atlantique. Le climat y est assez froid en hiver et plutôt doux en été. Les cantons de Saignes, Mauriac, Salers, Pleaux, Saint-Cernin, Laroquebrou et Jussac ont été sélectionnés en vue des études de terrain, l'altitude moyenne des pâtures de ces cantons apparaissant comparable à celle de la zone modèle des Combrailles.

Par rapport à la région des Combrailles, l'Ouest Cantal se distingue par des reliefs plus marqués et par une végétation arborescente présentant moins de conifères. Les prairies pâturées sont en moyenne plus grandes et les élevages comptent davantage de vaches laitières que dans les Combrailles, la dominante restant toutefois l'élevage allaitant. Les régions dans lesquelles les études de terrain se sont déroulées ayant été présentées, les protocoles de ces études vont être maintenant détaillés.

I.2 Déroutement des campagnes de terrain, sélection des sites et dispositions des points d'observation

I.2.1 Déroutement de l'étude de l'abondance des tiques *Ixodes ricinus* sur les pâtures (collectes de 2003, 2004, 2006, et 2007) [Publications 1 et 2]

Au printemps 2003 et 2004, les tiques ont été échantillonnées par la méthode du drapeau sur le périmètre de 61 pâtures de la zone des Combrailles (du 23 avril au 11

juin en 2003, et du 26 avril au 8 juin en 2004), ainsi que dans le bois le plus proche de chaque pâture.

Le choix des pâtures a été réalisé via la liste des élevages fournie par l'Etablissement Départemental de l'Elevages (EDE). Ne connaissant pas a priori la variation du phénomène étudié dans ce secteur, nous avons sélectionné au hasard 5% des exploitations de la zone des Combrailles ayant plus de 30 bovins, soit 61 exploitations sur un total de 1200. Une telle sélection nous a paru constituer un bon compromis entre la faisabilité de l'étude et la puissance statistique requise. Parmi les prairies naturelles de chacun des élevages, nous avons sélectionné la plus petite ayant contenu au moins cinq génisses pendant au moins trois mois en 2002 et en 2003. De telles pâtures, généralement plus broussailleuses et plus éloignées de l'exploitation que la moyenne, semblaient davantage susceptibles d'abriter des tiques (Schmidtman *et al.*, 1998). Un numéro d'identification aléatoire a été attribué à chacune des pâtures sélectionnées, dont l'altitude s'échelonnait entre 329 et 830 m.

Les points d'observation sur les pâtures correspondaient aux surfaces sur lesquelles a été passé le « drapeau » permettant la récolte des tiques (cf. II.1.1). Quant à la longueur et à l'espacement entre les surfaces échantillonnées, ils ont été adaptés de la manière suivante à nos études :

- Le « drapeau » était constitué par un tissu éponge blanc de 1 m x 1 m tiré par le préleveur, de façon régulière, sur 10 m le long de la clôture intérieure de la pâture. Chaque surface de 10 m² ainsi définie a été appelée « tranche ». L'intérieur de la pâture n'a pas fait l'objet de collectes, étant donné que seul un faible pourcentage des tiques potentiellement présentes sur la pâture pouvait a priori s'y développer (L'Hostis *et al.*, 1995b).
- Chaque tranche était espacée de 20 m de la suivante (Figure 15A). Nous avons ainsi échantillonné un tiers du périmètre intérieur de la pâture. Le protocole devait assurer l'indépendance statistique des tranches entre elles, compte tenu du faible déplacement des tiques par elles-mêmes.
- Le drap n'a pas été passé les jours de pluie, car son efficacité aurait été moindre (Vassallo *et al.*, 2000b).

Dans le bois le plus proche de chacune des pâtures, nous avons échantillonné 10 tranches, qui étaient également espacées de 20 m.

Pour les collectes de 2006, qui se sont déroulées du 17 mai au 16 juin, selon les modalités des collectes de 2003 et 2004, il a été décidé d'étendre la zone échantillonnée à l'Ouest Cantal, tout en conservant une partie de la zone d'étude des Combrailles. Au niveau des Combrailles, nous avons donc conservé les quatre pâtures étudiées en 2005 (cf. le paragraphe I.2.2), puis nous avons sélectionné aléatoirement 26 pâtures parmi les 57 pâtures restantes, pour constituer au final un échantillon comportant 30 pâtures. Nous avons ensuite mis en place un second échantillon de 30 pâtures dans la région Ouest Cantal. Ces pâtures ont été sélectionnées à partir des fichiers d'élevages de l'EDE, comme pratiqué dans les Combrailles. Cependant, nous avons ajouté un critère d'altitude, afin d'obtenir une altitude moyenne des pâtures cantaliennes comparable à l'altitude des pâtures échantillonnées dans la zone des Combrailles. Pour ce faire, nous avons soustrait de la sélection des élevages – effectuée via le fichier EDE – les élevages situés à plus de 800 m d'altitude, ou bien à moins de 350 m.

Afin de conserver la continuité de la série de données, nous avons de nouveau collecté les tiques au drapeau en mai et en juin 2007, en nous restreignant au tiers du périmètre intérieur et aux bois les plus proches des quatre pâtures sélectionnées en 2005 (cf. le paragraphe I.2.2).

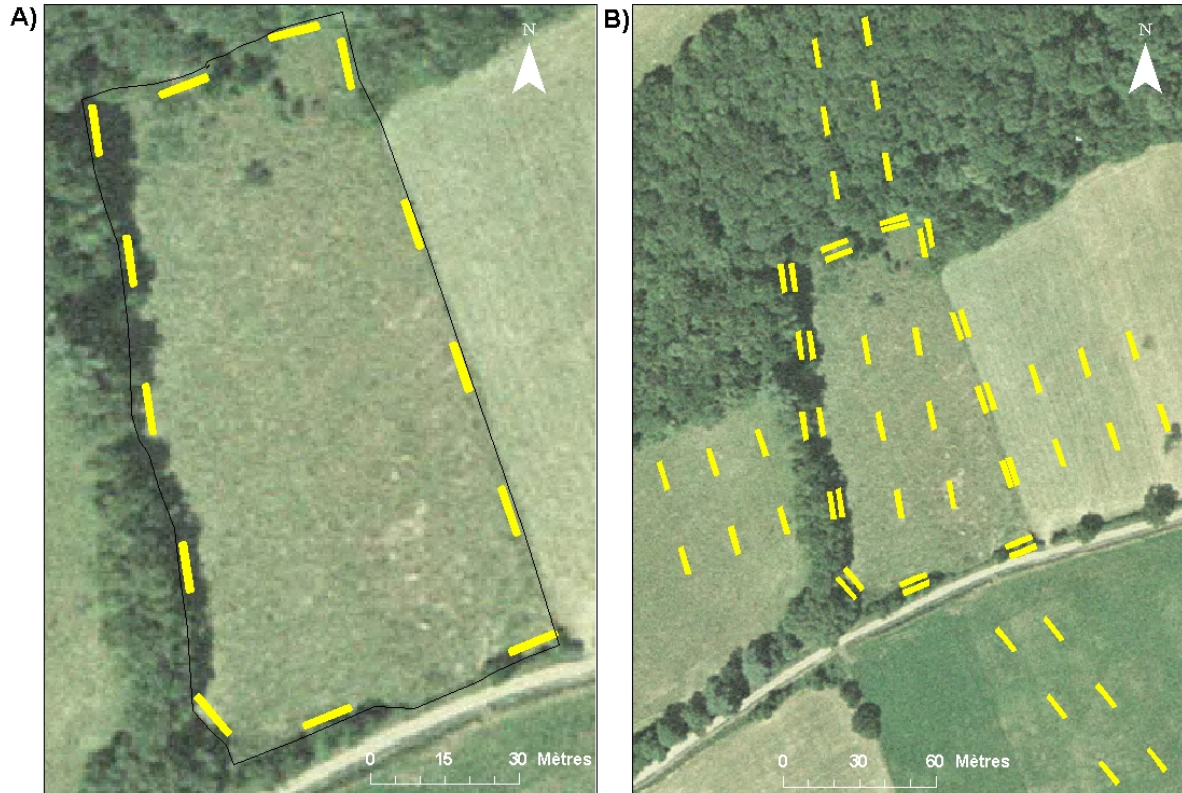


Figure 15 : Disposition des points d'observations sur la photographie aérienne d'une pâture.

A) Aux printemps 2003, 2004, 2006 et 2007, nous avons collecté des tiques sur des surfaces de 10 m² situées sur le périmètre intérieur des pâtures ; B) en 2005, nous avons examiné le périmètre de la pâture, l'intérieur et l'extérieur. Sur chacune des tranches (de 10 m²), nous avons collecté les tiques et posé les pièges lors des captures des petits mammifères. Nombre de pâtures examinées, selon les années : 61 en 2003 et en 2004, 4 en 2005, 60 en 2006, et 4 en 2007. Fond de carte : BD ORTHO®, 1999.

I.2.2 Déroulement de l'étude d'*Ixodes ricinus* à l'écotone bois-pâture (collectes de 2005) [Publication 4]

En 2005, l'effort de collecte a été porté sur quatre pâtures et sur leurs proches alentours. Quatre sites, situés respectivement à Dontreix [site n°53], Bussières [site n°25], Marcillat [site n°43] et Le Quartier [site n°27], ont fait l'objet de collectes de

tiques au drapeau une fois par mois d'avril à novembre et de piégeages de micromammifères.

Les quatre sites ont été sélectionnés parmi les pâtures étudiées en 2003 et 2004, selon les critères suivants :

- la pâture devait :
 - o jouxter un bois ;
 - o faire l'objet d'une activité humaine minimum (pas de route, ni de bâtiments, ni d'agglomération à proximité),
 - o ne pas être marécageuse ;
- aucun engrais ou acaricide ne devait avoir été épandu sur la pâture après 2003 ;
- des densités conséquentes de tiques devaient avoir été collectées, en 2003 et en 2004 sur deux des pâtures [sites 27 et 43], une densité intermédiaire sur une autre [site 25], et une densité très faible (mais supérieure à zéro) sur une dernière [site 53],
- au niveau de chaque pâture, les densités de tiques ne devaient pas avoir significativement varié entre 2003 et 2004.

Les éleveurs exploitant les sites d'étude potentiels ont été contactés afin d'obtenir leur collaboration pour une étude approfondie de leur pâture. Leur accord était requis, afin qu'ils ne fassent pas pâturer les bovins sur les pâtures sélectionnées pendant les sessions de piégeages des micromammifères.

Pour l'année 2005, comme en 2003 et en 2004, des tranches de 10 m² ont été espacées entre elles de 20 m et disposées sur le périmètre intérieur de la pâture. En vis-à-vis, de nouvelles tranches ont été étudiées sur le périmètre extérieur de la pâture, de l'autre côté de la clôture. La distance entre tranches des pourtours intérieur et extérieur variait selon l'épaisseur de la végétation faisant obstacle. Quatre transects ont été également réalisés afin de quadriller la pâture, soit deux en longueur et deux en largeur. L'orientation des tranches sur chaque couple de transects (soit en parallèle, soit alignées) dépendait de la disposition des bois ou des haies par rapport à la pâture. Ainsi, les tranches ont été disposées parallèlement à la lisière ou à la haie, dont nous avons pensé a priori que l'influence sur la répartition des tiques était maximale. Le nombre de tranches de chaque transect, à l'intérieur de la pâture, était de deux au minimum. A l'extérieur de la pâture, chaque transect comptait trois tranches de part et d'autre de la pâture à chaque extrémité. Chaque tranche du transect était espacée de 20 m d'une autre tranche ou de l'écotone le plus proche. Des pièges INRA® (Figure 16) adaptés à la capture des micromammifères ont été disposés à un pas de chaque extrémité des tranches définies selon le protocole 2005 (Figure 15B).

Les piégeages ont été réalisés pour préciser le rôle des micromammifères à l'interface bois-pâture vis-à-vis du transport d'*I. ricinus*. Trois sessions de piégeages ont été effectuées. Deux ont été réalisées au début du printemps, au moment où la reproduction des micromammifères reprend, soit du 24 au 29 avril, et du 5 au 10 juin. Une dernière session s'est déroulée en automne (18 au 23 septembre), qui correspond au moment de l'année où la densité des populations de micromammifères est maximale. Notons que c'est le faible nombre d'individus piégés au cours de la première session qui a rendu nécessaire la deuxième session du printemps. Chaque session a correspondu à

cinq jours de piégeage consécutifs, les pièges étant maintenus en place pendant les cinq jours sur le site et relevés tous les matins au lever du soleil.



Figure 16 : Piège INRA® en place.

Ce piège mesure 5x5x16 cm. (Photo EPI-A)

I.3 Données collectées

Outre les données sur les tiques à l'affût sur la végétation ou sur les micromammifères, à chaque déplacement sur le terrain, nous avons essayé de collecter les informations a priori pertinentes relatives au paysage, à la végétation, à la météo et aux animaux hôtes. Toutes ces informations ont été consignées sur des formulaires de terrain. D'autres informations ont été acquises auprès de Météo France et grâce à l'intervention de l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS).

I.3.1 Population d'intérêt et définition des variables à expliquer

Les données acquises concernant les tiques sont de deux types : les nombres de tiques à l'affût sur la végétation et les nombres de tiques présentes sur les micromammifères. Ces nombres ont été détaillés par espèce de tiques et par stase.

Pour les tiques à l'affût sur la végétation, le comptage a été réalisé seulement pour les nymphes et les adultes, qui ont été placés immédiatement après leur prélèvement dans des tubes contenant de l'alcool à 70%. Les larves, qui sont plus difficiles à discerner sur le tissu, et que l'on rencontre beaucoup plus sporadiquement mais de façon

encore plus agrégée que les nymphes, n'ont fait l'objet d'une évaluation qu'à partir de 2006, et n'ont pas été prélevées.

Au drapeau, la plupart des tiques collectées se sont avérées être de l'espèce *I. ricinus*. La grande majorité de ces tiques était des nymphes (Figure 17), alors que sur les micromammifères, nous avons détaché une forte majorité de larves (95% des tiques détachées), dont les espèces ont présenté une diversité plus importante que celle observée lors des collectes au drapeau, même si dans ce cas *I. ricinus* est aussi apparue largement majoritaire (Figure 18).

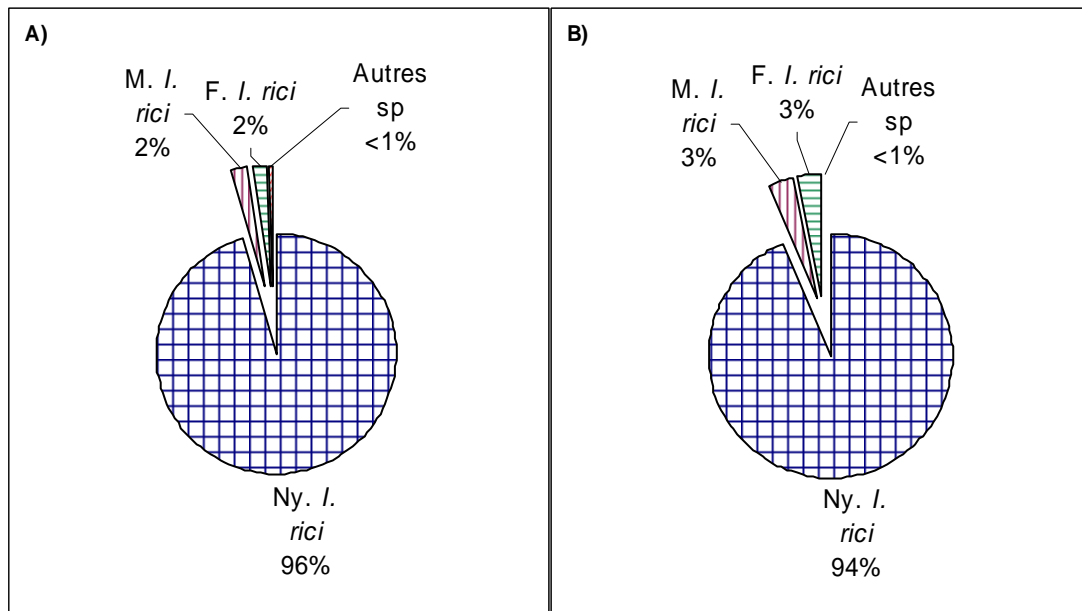


Figure 17 : Importance relative (%) des stases et espèces de tiques collectées au drapeau. A) sur les pâtures ; B) dans les bois.

Les pourcentages sont calculés sur l'ensemble des campagnes de terrain 2003, 2004, 2005 et 2006. Pour l'année 2005, seules les tranches du périmètre intérieur de la pâture et du milieu des bois ont été comptées. Abréviations : Ny. : nymphes, M. : mâles, F. : femelles, *I. ricinus* : *Ixodes ricinus*.

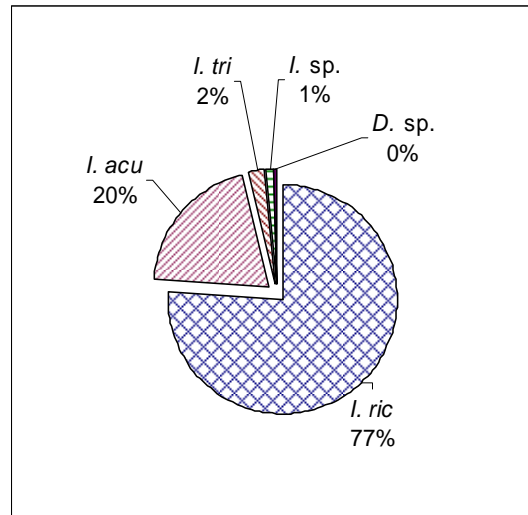


Figure 18 : Importance relative (%) des espèces de tiques collectées sur les micromammifères toutes stases confondues en 2005.

Abréviations : I. ric : *Ixodes ricinus*, I. acu : *I. acuminatus*, I. tri : *I. trianguliceps*, I. sp. : *Ixodes* non identifié, D. sp. : *Dermacentor* non identifié.

Compte tenu du nombre important de nymphes *I. ricinus* collectées sur la végétation, l'étude de l'abondance des tiques sur les pâtures porte sur cette seule espèce et cette seule stase. Les nymphes *I. ricinus* étant les plus impliquées dans les processus épidémiologiques, leur abondance a une signification très notable, comme nous l'avons vu dans la première partie du mémoire, en termes de risque de transmission d'agents pathogènes. Ainsi, la variable à expliquer de nos études a-t-elle été constituée par le nombre de nymphes *I. ricinus* collectées par tranche.

Quant à l'étude 2005 concernant le rôle des micromammifères sur la répartition d'*I. ricinus*, la variable à expliquer a été le nombre de larves *I. ricinus* par micromammifère capturé, au vu du rôle épidémiologique que jouent les larves vis-à-vis des micromammifères.

I.3.2 Variables potentiellement explicatives

Afin d'appréhender les phénomènes régissant l'abondance des tiques dans le milieu naturel, un ensemble de variables potentiellement explicatives concernant le moment de la collecte, la topologie, les conditions abiotiques (température, hygrométrie, sol) ou encore la végétation, ont été prises en compte et mesurées au niveau de la pâture ou de la tranche. Au final, les variables potentiellement explicatives utilisées dans la modélisation de l'abondance des nymphes sur les pâtures sont listées en annexe A2.III. Quant aux résultats de la modélisation des données 2003, ils sont présentés dans l'article de Boyard *et al.* (2007a) (cf. II.3.1.). Par ailleurs, les variables retenues dans le modèle final de Boyard *et al.* (2007a) ont été testées sur les données recueillies lors des collectes de 2004 (Combrailles) et de 2006 (Combrailles et Ouest Cantal) [publication 3].

Concernant l'étude 2005, dont l'objectif était d'évaluer le rôle des micromammifères sur la répartition des tiques *I. ricinus*, des variables caractéristiques de l'emplacement des tranches – et donc des pièges – ont été prises en compte, ainsi que des variables propres aux micromammifères, la liste exhaustive des variables considérées dans l'étude 2005 étant listée dans l'annexe A3.III.

Précisons maintenant les conditions d'acquisition et/ou de mesure des données concernant les divers types de variables qui ont été utilisés dans nos études.

I.3.2.1 Données structurelles

La date et l'heure de chaque sortie terrain ont été notifiées.

Les coordonnées géographiques des différents sites visités, altitude, latitude et longitude, ont été obtenues à l'aide d'un GPS disposé à l'entrée de la parcelle.

En ce qui concerne la topologie du terrain, nous avons noté la pente de la pâture et la présence d'eau. L'orientation principale de la pâture a été calculée grâce au Système d'Information Géographique (SIG) ArcView© (ESRI, 2003), à partir des courbes de niveau (BD TOPO® MNT 25 m).

Enfin, la composition du sol de chaque parcelle a été analysée au Centre INRA d'Arras (Laboratoire d'Analyses des Sols, Département Environnement et Agronomie). Ont été déterminés, pour chacune des parcelles, la composition granulométrique (taille des particules), le rapport carbone sur azote (C/N) et le pH. Il n'a pas été jugé utile de reconduire ce protocole sur les pâtures du Cantal, au vu des résultats des modélisations concernant les parcelles des Combrailles.

I.3.2.2 Données botaniques et paysagères

Pour chaque pâture, nous avons noté la présence d'arbres et de broussailles, et évalué le pourcentage de la surface de la pâture couvert par des broussailles. Le même calcul a été fait pour les arbres et les arbustes sur le périmètre de la pâture via l'estimation des pourcentages du périmètre de la pâture avec strate arborescente et avec strate arbustive. L'identification des espèces végétales présentes sur le périmètre de la pâture a été en outre réalisée.

La hauteur de la strate herbacée a été mesurée sur toutes les tranches. Par ailleurs, nous avons noté pour toutes les tranches le type de paysage se trouvant juste au bord de la tranche, ainsi que de l'autre côté de la clôture. Pour les quatre sites étudiés en 2005, les noms des espèces d'arbres ont été relevés pour chaque tranche.

Au niveau, des tranches, nous avons également observé :

- leur emplacement : bois, pâture ou haie ;
- leur degré de connexion avec le bois : connexion directe (si la tranche est incluse dans le bois ou juste au bord), connexion indirecte (si la tranche est située au bord d'une haie qui mène au bois) ou absence de connexion dans les autres cas.

L'environnement extérieur de la pâture a également été décrit : la présence de bois aux alentours a été ainsi prise en compte, et la distance bois-pâture estimée. Le même raisonnement a été appliqué à la route et à l'habitation la plus proche. Nous avons également précisé la nature du bois le plus proche (feuillu, conifère ou mixte).

A l'aide du logiciel ArcView© (ESRI, 2003) et de la base de données Corine Land Cover (CLC2000, 100 m, European Environment Agency), nous avons calculé « le nombre de surfaces » occupées par les forêts feuillues et le rapport « périmètre sur surface » des éléments boisés, ceci sur un rayon de deux kilomètres autour de la pâture.

I.3.2.3 Données « tiques du bois »

En plus des caractéristiques strictement végétales, nous avons collecté – et sommé sur 10 tranches de 10 m – les tiques du bois le plus proche de la pâture.

I.3.2.4 Données météorologiques

Au cours de chaque sortie sur le terrain, nous avons indiqué le degré de couverture nuageuse au moment de la récolte, et avons mesuré la température et l'hygrométrie à l'aide d'un thermomètre-hygromètre électronique placé au sol à l'entrée des pâtures. Cependant, il faut signaler que ces mesures, très, ponctuelles ne peuvent que refléter assez imparfaitement les conditions vécues par les tiques. Pour compléter ces informations, nous avons pris en compte les données de température, hygrométrie et précipitations enregistrées quotidiennement à Saint-Gervais d'Auvergne et Mauriac (en tant que stations météorologiques de Météo France les plus proches des sites étudiés). Ces mesures ne donnant qu'une idée globale des conditions météorologiques, leurs valeurs ont été moyennées sur plusieurs jours (10 jours pour les analyses des collectes au drapeau, deux jours pour l'analyse des larves sur les micromammifères).

I.3.2.5 Données concernant les animaux hôtes

Afin de tenir des animaux hôtes disponibles pour les tiques au niveau des pâtures, d'une part nous avons relevé le nombre de bovins présents sur les pâtures au moment des collectes, et d'autre part, nous avons demandé aux éleveurs quel était le nombre de bovins en rotation sur les pâtures échantillonnées les années précédentes les collectes (cf. I.3.3.1).

Les tableaux de chasses sangliers et chevreuils 2003 et 2004 des communes des Combrailles où étaient situées les pâtures nous ont été communiqués par l'ONCFS.

I.3.2.6 Caractéristiques des micromammifères

Au moment de la capture, les micromammifères ont subi une prise de sang, afin de rechercher une éventuelle infection par les tiques, puis ont été sacrifiés par dislocation cervicale. Au retour du terrain, ont été pratiqués sur chaque micromammifère :

- un comptage rigoureux des tiques portées ;
- des mesures morphologiques ;
- le prélèvement des cristallins, afin d'estimer l'âge des individus ;
- des prélèvements pour la recherche d'agents pathogènes (en vue de travaux extérieurs au périmètre de la thèse).

Une première identification de l'espèce de micromammifère a eu lieu lors de la capture et de l'autopsie. Une confirmation d'identification a été faite par les équipes de Michel Pascal (INRA, Rennes) et de Sarah Samadi (Service de Systématique Moléculaire, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris).

I.3.3 Protocoles prospectifs en vue de l'étude de la répartition des animaux hôtes

Les populations d'animaux étaient difficiles à appréhender par des observations ponctuelles et réduites en temps, conditions qui prévalaient lors de nos sorties sur le terrain. Néanmoins, nous avons essayé d'évaluer comment les pâtures étaient utilisées par les bovins et par la faune sauvage.

I.3.3.1 Utilisation des pâtures par les bovins

Les observations concernant l'utilisation des pâtures par les bovins ont été menées avec l'objectif d'étudier la liaison entre fréquentation des différentes zones des parcelles par les bovins et quantité de tiques présentes sur ces mêmes parcelles.

Les observations ont été menées deux jours de suite de 15 à 22 heures, les 3 et 4 juillet 2005, sur trois des pâtures examinées en 2005 (sites 25, 27 et 53, aucune vache ne pâturait sur la quatrième, site 43). Nous avons défini des secteurs sur les pâtures, correspondant chacun à une tranche (Figure 19). Pour les tranches de contour, les secteurs définis étaient situés au bord de la pâture et larges de trois mètres. Pour les autres tranches, les secteurs étaient placés de façon à englober les tranches. L'observation des bovins a consisté à relever toutes les cinq minutes, pour chaque zone, combien de bovins s'y trouvaient et quelles étaient leurs activités : pâturage, repos, station immobile, déplacement, abreuvement. Ce système d'observation a permis de constater que l'ensemble des zones de chaque pâture a été parcouru par les bovins. Par ailleurs, ceux-ci ont eu tendance à se reposer en début de session d'observation, soit pendant les heures les plus chaudes. Néanmoins, les bovins étaient alors plutôt couchés vers le milieu de la pâture que vers les haies où nous avons collecté le plus de tiques. Il convient toutefois de préciser que la température n'était pas particulièrement élevée pendant nos journées d'observation et qu'en conséquence, les bovins n'ont pas recherché l'ombre des haies.

Les plans de rotation des bovins sur les pâtures ont fait l'objet d'un questionnaire auprès des éleveurs. La grande majorité des éleveurs (51/60) procède par rotations sur trois à cinq pâtures. La saison de pâture débute en général vers la mi-avril, et se termine début novembre. Durant cette période, les troupeaux passent d'une pâture à une autre, selon les disponibilités d'herbe. Les éleveurs laissent leur troupeau de 5 à 60 jours consécutifs sur leurs pâtures (moyenne : 19 jours, écart-type : 13 jours), et reconduisent le troupeau sur la même pâture au bout de 15 jours à 2 mois (moyenne : un mois, écart-type : 12 jours). Pour les éleveurs ne pratiquant pas la rotation, le troupeau reste sur la même pâture pendant toute la belle saison. Si la densité de bovins par pâture est variable dans le temps, elle est également variable en intensité : ainsi, les chargements vont de 1 à 40 bovins par hectare (moyenne : 8 bovins/ha, écart-type : 7 bovins/ha). Au final, ces chiffres montrent combien l'utilisation de la pâture est variable d'un éleveur à l'autre.

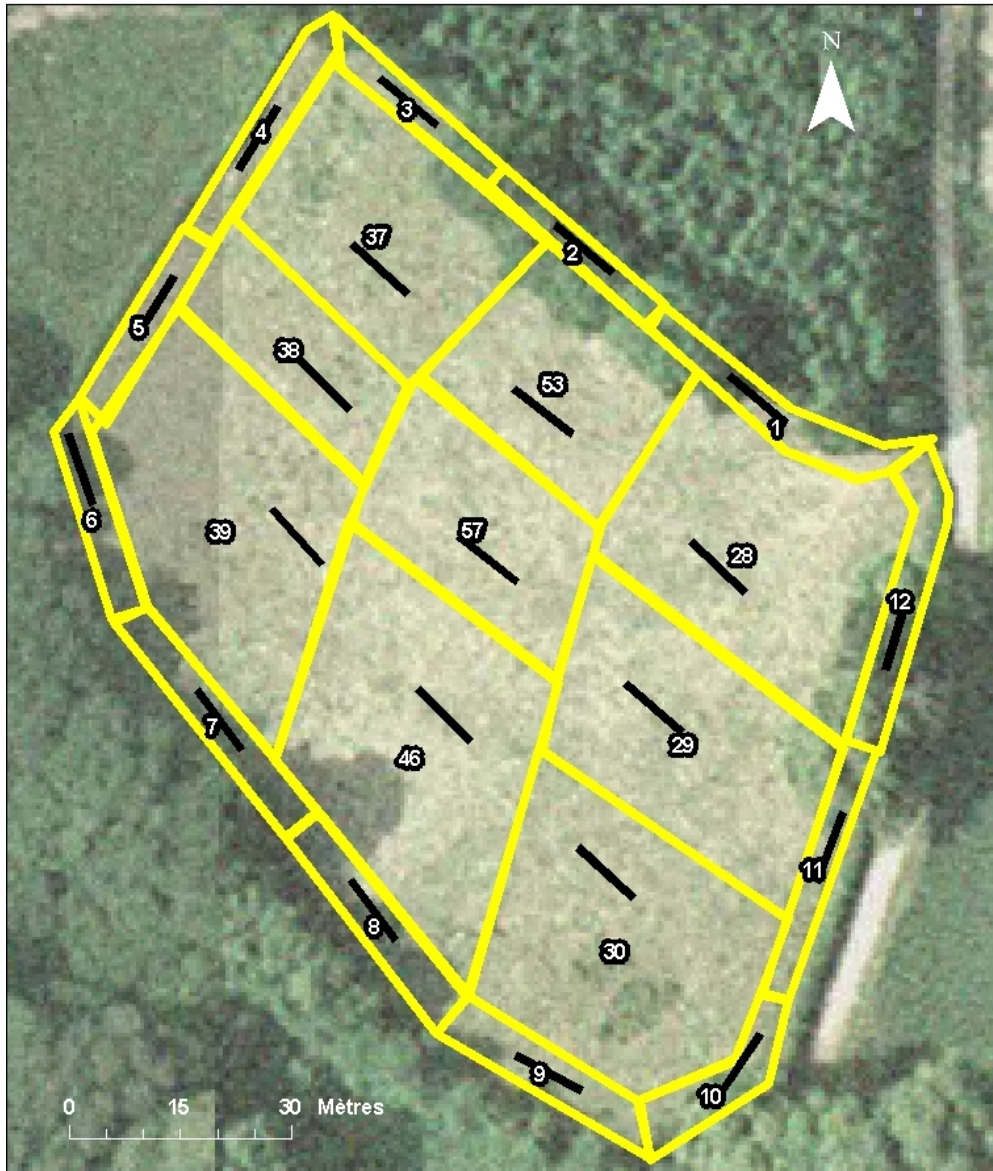


Figure 19 : Position des secteurs pour l'observation des bovins sur les pâtures.

Un secteur est une partie délimitée par des contours jaunes. Le numéro attribué à un secteur est identique à celui de la tranche correspondante. Fond de carte : BD ORTHO®, 1999.

I.3.3.2 Faune sauvage [Publication n°5]

L'ONCFS a été contacté, afin d'obtenir des estimations de la présence et de l'utilisation des habitats par la faune sauvage sur les quatre sites concernés par l'étude de la relation bois-pâturage. Des prospections de jour et de nuit ont donc été effectuées par des agents ONCFS. L'objectif était la détermination des espèces de mammifères (à l'exception des micromammifères) et d'oiseaux fréquentant les pâtures étudiées, ainsi que leurs abords immédiats, via des observations directes, des points d'écoute (15

minutes en début de prospection) et la recherche d'indices de présence (crottes, empreintes, terriers, gîtes, coulées).

La prospection de nuit a correspondu à l'observation au phare de la pâture et de ses abords immédiats, ceci au cours de deux nuits différentes et à raison de deux observations par nuit. La prospection de jour a correspondu à deux matinées d'observation. Chaque pâture, ainsi que les terrains alentours sur un rayon de 500 m, a été prospectée durant deux matinées pendant quatre heures, afin de noter et de cartographier tous les indices de présence, ainsi que les animaux observés directement. Une écoute de 15 minutes a systématiquement été effectuée en entame de la prospection pour déterminer les espèces d'oiseaux présentes. Les deux heures suivant le levé du soleil ont été comprises dans le temps de prospection, afin de maximiser la probabilité d'observation et d'écoute. Ces protocoles ont été réalisés en juillet-août 2005, en avril 2007 et en juillet 2007.

I.4 Traitement des données

Nous rappelons ici la démarche générale d'analyse des données, dont le détail figure dans les articles publiés ou soumis.

Dans le but d'identifier les facteurs de variation d'abondance – des nymphes *I. ricinus* à l'affût sur la végétation ou des larves *I. ricinus* attachées sur les micromammifères, nous avons utilisé des modèles statistiques exploratoires. Ces modèles, du type des Modèles Linéaires Généralisés (GLM, McCullagh et Nelder, 1991), permettent de prendre en compte un grand nombre de covariables, pour autant que le nombre de degrés de liberté soit suffisant et que l'algorithme d'ajustement puisse converger. Les variables à inclure dans les modèles ont été présélectionnées via des tests non paramétriques. Lorsqu'un groupe de variables représentait les mêmes concepts, il nous a semblé opportun de réaliser des Analyses de Correspondances Multiples (ACM), afin de synthétiser l'information.

Les divers calculs et ajustements ont été effectués grâce au logiciel « R » (version 2.2.1), accessible sur le site : <http://cran.r-project.org/>. Des exemples de programmes sont disponibles en annexe page 224.

I.4.1 Stockage des données

Des « formulaires papier » spécifiques à chaque étude ou type de données ont été remplis sur le terrain (Annexe A2.I : Acquisition des données, page 200). Une fois ces formulaires triés, ils ont été placés dans des classeurs et les données correspondantes saisies pour être insérées dans des bases de données Access. Afin de limiter les entrées erronées, la saisie a été effectuée par deux personnes. L'ensemble des saisies a été ensuite soumis à des tests de cohérence, 10% des données ayant fait l'objet de vérifications détaillées par comparaison avec les informations des formulaires papier.

Trois bases de données ont été créées : une pour les données de 2003 et 2004, une pour les données de 2005 et une dernière pour les données de 2006. Le développement de ces bases a été effectué par une informaticienne de l'unité d'Epidémiologie Animale, en accord avec un cahier des charges spécifié par les utilisateurs (Annexe A2.II : Stockage des données, page 206).

I.4.2 Sélection des variables

Les variables potentiellement explicatives ont fait l'objet d'une sélection préalable à la construction d'un modèle. L'élimination des redondances (corrélations entre variables) a été nécessaire, afin de conserver un nombre de degrés de liberté suffisant pour construire les modèles et assurer leur convergence. Nous avons ainsi procédé à :

1) une étape de mise en forme des données : les variables quantitatives ont été découpées en deux ou trois catégories d'effectifs égaux selon leur répartition. Lorsque les effectifs des classes des variables qualitatives étaient trop inégaux, des regroupements ont été opérés avec le souci de maintenir la pertinence de la variable ;

2) une étape d'analyse des corrélations entre variables « potentiellement explicatives » et variables à expliquer : ont été conservées les variables « explicatives » dont la corrélation avec la variable à expliquer était significative à $P < 0,1$. Les tests utilisés pour l'analyse des corrélations ont dépendu de la nature des variables potentiellement explicatives :

- pour les variables avec trois classes ou plus, le test de Kruskal-Wallis a été utilisé ;
- pour les variables binaires, on a employé le test de la somme des rangs.

Comme certaines variables étaient spécifiques des pâtures (variables « pâture »), d'autres des tranches (variables « tranche ») ou des micromammifères (variables « micromammifères »), les tests statistiques ont été effectués, soit contre la densité de nymphes *I. ricinus* par pâture (égale au nombre de nymphes *I. ricinus* sur la pâture divisé par le nombre de tranches de la pâture), soit contre le nombre de nymphes par tranche, soit encore contre le nombre de larves par micromammifères ;

3) une étape d'analyse des corrélations entre les variables explicatives. Des tests du χ^2 ont été effectués entre ces variables deux à deux. Quand deux variables étaient corrélées, nous avons choisi de conserver celle dont la corrélation avec la variable à expliquer était la plus forte, quand du moins la pertinence d'une variable par rapport à l'autre n'entraînait pas en jeu. Ainsi, dans le cas de la modélisation du nombre de larves transportées par les micromammifères, l'espèce des micromammifères nous est apparue constituer une variable d'intérêt suffisamment importante pour que nous la choisissions à la place de la variable « milieu de capture du micromammifère », malgré une plus forte corrélation de cette dernière variable avec la variable à expliquer. Par la suite, la dépendance entre l'espèce du micromammifère et son milieu de capture a été analysée via une ACM.

De manière générale, nous avons observé de fortes corrélations entre les variables explicatives, observation en fait caractéristique des études effectuées en milieu naturel. En effet, nombre de variables environnementales sont étroitement interdépendantes : par exemple, il y a majoritairement des arbres sur un bord de tranche quand il y a un bois à proximité de la pâture. En revanche, en l'absence de proximité d'une pâture avec un bois, le bord de la tranche comporte souvent des broussailles et très peu d'arbres. En ce qui concerne les micromammifères, comme les différentes espèces occupent des milieux plus ou moins distincts, l'analyse de l'influence des espèces sur le portage de

larves est difficilement dissociable de l'analyse de l'influence du milieu, à moins de ne considérer qu'une seule espèce, ou seulement les espèces parcourant plusieurs milieux.

Les variables résultant de la phase de sélection sont les « covariables » qui ont été incluses dans un modèle statistique de loi appropriée. L'optimisation du modèle a été réalisée selon la procédure descendante du test du rapport de vraisemblance, les seules covariables significatives à $P < 0,05$ ayant été conservées dans le modèle final. Enfin, l'ajustement aux données a été attesté par des tests du χ^2 ayant comparé la distribution prédite par le modèle à la distribution observée.

I.4.2.1 Etude des interactions

Une interaction statistique correspond à la situation où l'effet d'une variable explicative sur la variable à expliquer change en fonction de la valeur prise par une seconde variable explicative. Les modèles de type GLM permettent de prendre en compte les interactions spécifiées dans le modèle. L'étude de l'interaction de deux variables sur l'abondance des tiques sur les pâtures a été analysée quand cette étude a été jugée pertinente à partir de critères de possibilités d'interprétation. La fonction boxplot de « R » a été utilisée pour effectuer l'analyse des interactions via la confection de « boîtes à moustaches » permettant de présenter les densités de tiques correspondant à diverses classes de valeurs des variables en interaction.

I.4.3 Choix de la loi de distribution

Pour atteindre l'objectif de mise en évidence des facteurs de variation de l'abondance des nymphes ou des larves *I. ricinus* sur les pâtures ou les micromammifères, nous avons pris l'option de considérer une méthode générique tenant compte de la totalité de l'information. Dans cette perspective, nous avons choisi de mettre en œuvre des modèles issus des statistiques paramétriques exploratoires. De tels modèles permettent en effet un premier débroussaillage des données lorsqu'on se trouve face à un problème complexe au niveau duquel on ne connaît pas bien le modèle sous-tendant les données (Ratkowsky, 1989).

La distribution des tiques dans l'environnement, qui apparaît non aléatoire, ne semble pas devoir se conformer a priori à une loi de Poisson. Dans ce cadre, une analyse a été menée pour choisir, parmi les lois capables de prendre en compte la surdispersion par rapport à la loi de Poisson, celle dont l'ajustement aux données permettait de tester de manière optimale les effets des facteurs. Finalement, parmi les lois de probabilité disponibles pour des données de dénombrement, nous avons essayé d'en ajuster quatre aux données collectées en 2003 (Figure 20) :

- 1) la première loi qui a été considérée, afin de vérifier que son ajustement aux données n'était pas satisfaisant, a donc été la loi de Poisson. Cette loi modélise un processus purement aléatoire, où la position d'une tique n'influence aucunement la position des autres. Si cette affirmation était vraie, le nombre de tiques sur une tranche i , Y_i , aurait suivi une loi de Poisson de paramètre λ ;
- 2) ensuite, nous avons tenté d'ajuster une loi binomiale négative (NB) de paramètres μ (moyenne) et k (paramètre de dispersion). Cette loi est généralement employée, notamment en parasitologie (Wilson *et al.*, 2001), pour l'analyse des phénomènes agrégatifs qui présentent une dispersion plus grande que la loi de

Poisson. La loi binomiale négative peut être considérée comme une loi de Poisson pour laquelle le paramètre λ est pondéré par un effet aléatoire de loi gamma, soit :

$$E(Y_i | \varepsilon_i) = \lambda_i \varepsilon_i$$

où ε_i est un paramètre de perturbation distribué selon une loi gamma de moyenne 1 et de variance α . La prise en compte de la surdispersion revient en fait à considérer l'hétérogénéité individuelle des tranches (Greene, 1994) ;

3) nous avons continué par la loi de Poisson avec charge en zéro (Zero Inflated Poisson ou ZIP), dont la densité est donnée par la formule :

$$\begin{cases} ZIP(y, \lambda, p) = p + (1 - p) \cdot Pois(y, \lambda) & \text{si } y = 0 \\ ZIP(y, \lambda, p) = (1 - p) \cdot Pois(y, \lambda) & \text{si } y > 0 \end{cases}$$

où *Pois* est la densité de la loi de Poisson et p est compris entre 0 et 1. Le ZIP permet également de considérer une hétérogénéité parmi les tranches. Mais celle-ci, au lieu d'être individuelle comme dans le cas de la loi binomiale négative, est répartie en deux sous-ensembles de tranches : une proportion p des tranches est en effet considérée impropre aux tiques et n'en contient pas, tandis que sur les autres tranches, le nombre de tiques est supposé suivre une loi de Poisson ;

4) enfin, la quatrième loi prise en compte a été la binomiale négative avec charge en zéro (Zero Inflated Negative Binomial ou ZINB). Cette loi est régie par les mêmes principes que le ZIP, sauf que l'on remplace la loi de Poisson par la loi binomiale négative. La fonction densité est alors donnée par la formule :

$$\begin{cases} ZINB(y, \mu, k, p) = p + (1 - p) \cdot NB(y, \mu, k) & \text{si } y = 0 \\ ZINB(y, \mu, k, p) = (1 - p) \cdot NB(y, \mu, k) & \text{si } y > 0 \end{cases}$$

Pour les modèles de Poisson et NB, les variables sont supposées avoir une influence sur la moyenne du nombre de tiques collectées. Pour ce qui concerne les modèles avec charge en zéro, des variables sont considérées comme ayant une influence sur le paramètre p , et d'autres sur μ . Nous avons choisi, dans notre cas, de faire dépendre le paramètre p des variables qui sont spécifiques à la pâture. Ces variables « pâture » sont en effet plus globales que les variables « tranche », et sont donc plus à même d'aider à comprendre si la pâture est favorable aux tiques ou si elle ne l'est pas. Les variables « tranche », plus précises, sont supposées plus aptes à contrôler le nombre de tiques sur une tranche si la pâture est favorable.

Dans le cadre présent de l'étude du modèle le plus adapté, une sélection des covariables un peu différente de celle présentée au paragraphe I.4.2 a été réalisée. La sélection des covariables « pâtures » et des interactions à inclure dans ces modèles a été réalisée à partir des analyses univariées décrites plus haut, puis par l'ajustement d'une loi bêta-binomiale, afin de modéliser l'influence de ces variables sur la présence des nymphes *I. ricinus* sur les pâtures. La variable à expliquer était y_i/n_i , y_i correspondant au nombre de tranches contenant au moins une tique, et n_i concernant le nombre de tranches examinées sur la pâture i . Le modèle le plus simple pour ce type de variables aurait été le modèle logistique. Mais, pour prendre en compte la surdispersion observée par rapport à ce modèle, nous avons ajusté une loi bêta-binomiale grâce à la procédure de Williams (1982) implémentée dans la fonction « glm.binomial.disp » du module « dispmod » de « R ». Cette fonction permet d'obtenir un paramètre de dispersion \emptyset .

L'appel de « glm.binomial.disp » est équivalent à l'ajustement d'une loi binomiale avec les poids $1/[1 - (n_i - 1)\phi]$. L'optimisation du modèle a ensuite été réalisée, selon la procédure descendante du test du rapport de vraisemblance. Les variables « pâtures » et les interactions restantes ont ensuite été incluses dans les modèles décrits plus haut avec les variables « tranches » qui étaient corrélées au nombre de nymphes par tranche.

Le test de Vuong (Vuong, 1989) a servi à comparer les différentes lois de probabilité deux à deux ; ce test est basé sur les fonctions de densité des deux lois, et donc sur la qualité d'ajustement. La statistique du teste de Vuong s'écrit :

$$V = \frac{\bar{m}\sqrt{N}}{S_m}$$

où \bar{m} est la moyenne de $m = \log(f_1(\cdot)/f_2(\cdot))$ et S_m son écart type. $f_1(\cdot)$ est la fonction densité du modèle 1 et $f_2(\cdot)$ celle du modèle 2. N est la taille de l'échantillon. Si V dépasse 1,96, le test favorise le modèle 2. Si V est inférieur à -1,96, le modèle 1 est considéré comme le plus efficace. Si la valeur de V est supérieure ou égale à -1,96 et inférieure ou égale à 1,96, aucun des deux modèles n'est favorisé.

A la suite de la mise en oeuvre du test de Vuong, la loi binomiale négative s'est avérée être la plus à même de modéliser l'abondance des tiques (cf. II.2). Ainsi, l'avons nous appliquée aux distributions d'*I. ricinus* dans l'environnement et sur les micromammifères.

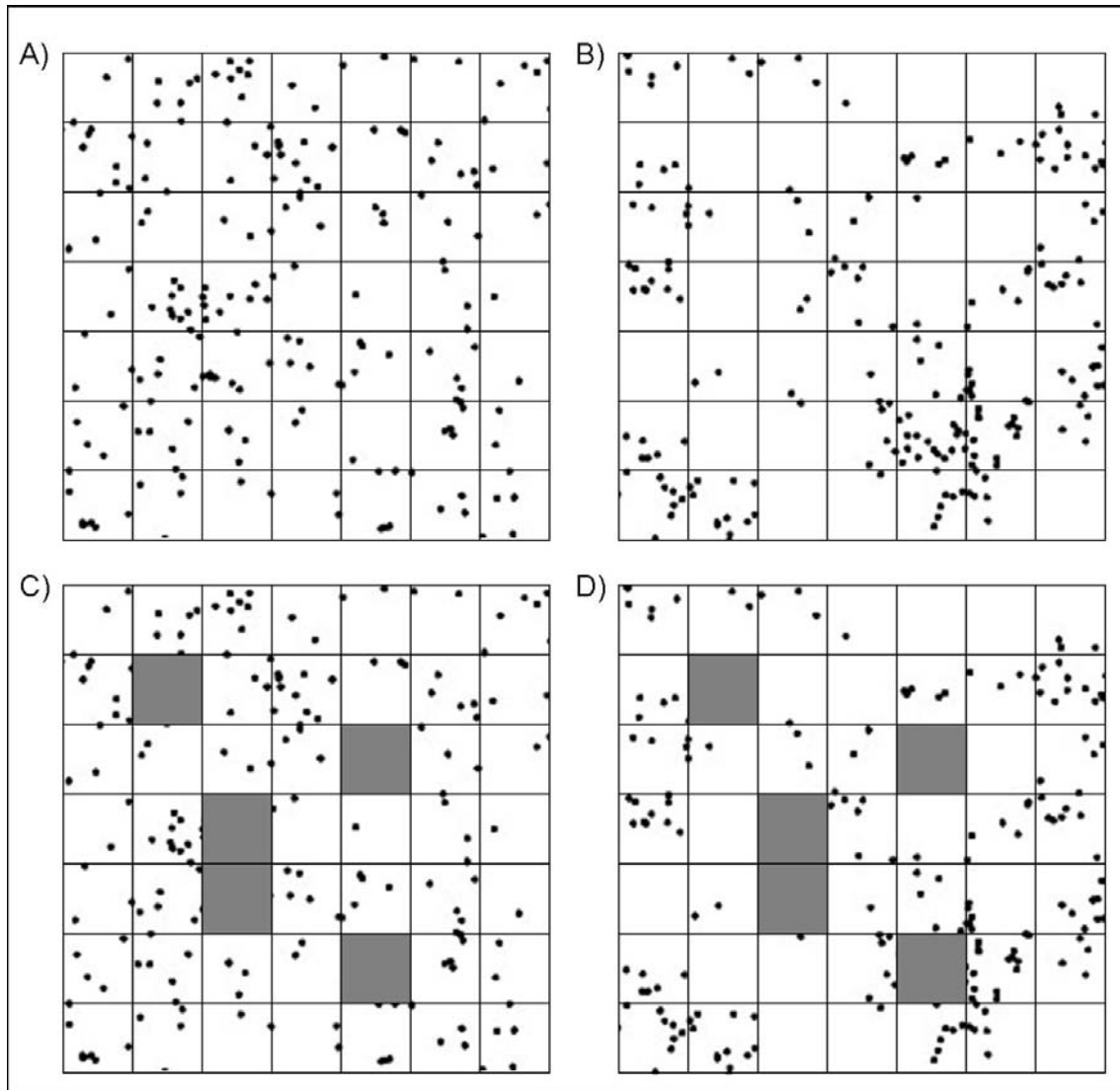


Figure 20 : Représentation schématique de la réalisation d'une variable aléatoire dans l'espace suivant 4 lois de distribution.

A) Poisson, B) binomiale négative (NB), C) distribution de Poisson à classe zéro augmenté (ZIP), D) distribution négative binomiale à classe zéro augmentée (ZINB). Les cases grisées des distributions ZIP et ZINB différentient les espaces sur lesquels la réalisation de la variable aléatoire est zéro.

II Etude des facteurs de variation de l'abondance de nymphes *Ixodes ricinus* en prairie permanente pâturée sur deux zones modèles en Auvergne

Les populations de tiques sont sujettes aux actions conjointes des conditions climatiques et environnementales. Chaque région possédant à ces niveaux ses caractéristiques propres, le comportement des densités de tiques est lié à la région étudiée. Ayant débuté l'étude des densités de tiques *I. ricinus* par une analyse à l'échelle des pâtures de la zone modèle des Combrailles, nous avons voulu savoir si les résultats obtenus dans les Combrailles étaient reproductibles dans une autre zone modèle du Massif Central, en l'occurrence la région de l'Ouest Cantal

II.1 Statistiques descriptives de la distribution des nymphes *Ixodes ricinus* sur les pâtures

La distribution du nombre de nymphes *I. ricinus* par tranche de 10 m² est caractérisée par une moyenne de 1,7 à 3,7 et par un écart type élevé correspondant à 2,2 à 6,1 fois la moyenne (Tableau 8). Corrélativement, le pourcentage de tranches comportant au moins une nymphe a varié entre 35 et 39%, selon l'année et la zone.

Tableau 8 : Valeurs descriptives de la distribution des nymphes *I. ricinus* sur les tranches de pâture (surfaces de 10 m²).

	2003	2004	2006	
	Combrailles	Combrailles	Combrailles	Ouest Cantal
Nombre de pâtures examinées	61	61	30	30
Nombre de tranches examinées	1089	1150	593	757
Nombre de nymphes <i>I. ricinus</i> collectées	2772	4267	1342	1321
% des tranches infestées par des nymphes <i>I. ricinus</i> (IC à 95%)	37 (34-40)	39 (36-42)	39 (35-43)	35 (31-38)
Nombres minimum-maximum de nymphes <i>I. ricinus</i> par tranche	0-143	0->400	0-86	0-52
Nombre moyen de nymphes <i>I. ricinus</i> par tranche (IC à 95% calculé sur la base d'une loi binomiale négative)	2,55 (2,18-2,97)	3,71 (3,16-4,35)	2,26 (1,86-2,75)	1,75 (1,46-2,08)
Ecart-type du nombre de nymphes <i>I. ricinus</i> par tranche	8,38	22,64	7,55	4,25

II.2 Choix du modèle statistique

II.2.1 Covariables

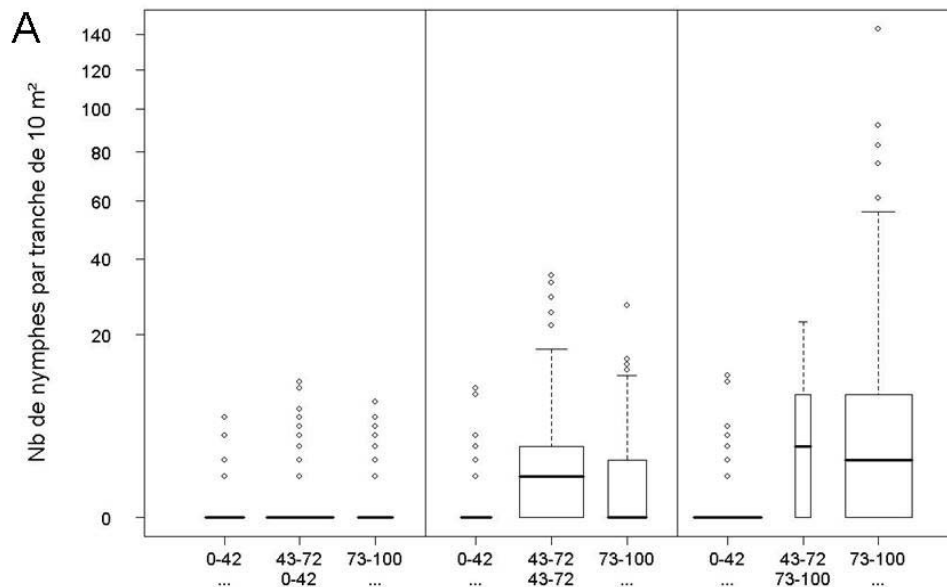
Suite à la sélection des variables potentiellement explicatives et à l'élimination des corrélations entre celles-ci, les covariables suivantes ont été incluses dans la modélisation :

- 3 variables « tranche » :
 - o caractéristiques du paysage : ce qu'il y a bord de la tranche ;
 - o caractéristiques du paysage : ce qu'il y a de l'autre côté de la clôture ;
 - o distance bois-tranche < 20 m (oui/non) ;
- 8 variables « pâture » :
 - o distance bois-pâture < 20 m (oui/non) ;
 - o nombre de nymphes *I. ricinus* collectées dans le bois le plus proche ;
 - o présence de cerisiers sur le périmètre de la pâture (oui/non) ;
 - o présence de pommiers sur le périmètre de la pâture (oui/non) ;
 - o hygrométrie minimum sur les 10 jours précédant la collecte (%) ;
 - o pourcentage du périmètre avec strate arborescente (%) ;
 - o présence d'orties (*Urtica dioica*) sur le périmètre de la pâture (oui/non) ;
 - o présence de viorne (*Viburnum lantana*) sur le périmètre de la pâture (oui/non).

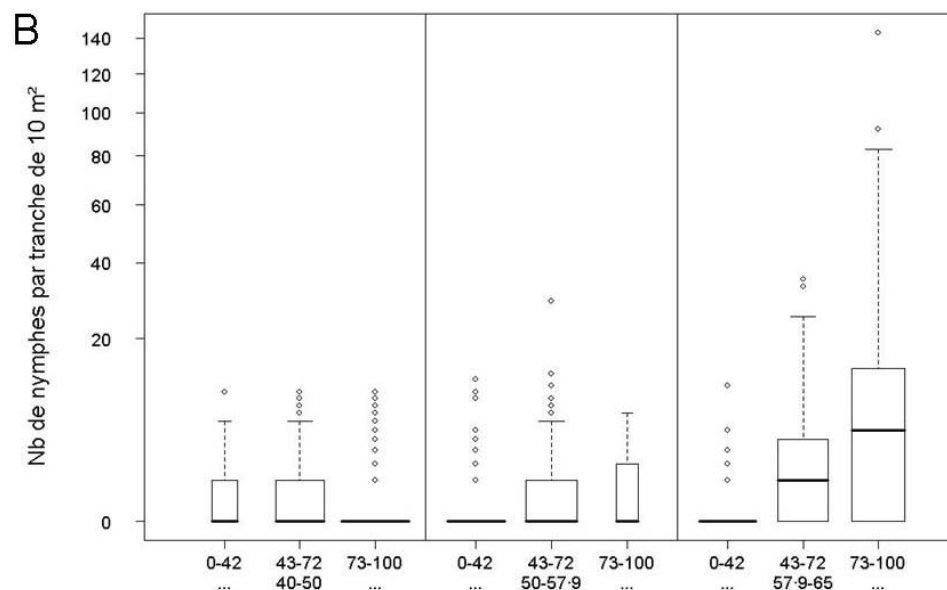
II.2.2 Etude des interactions

Les interactions potentiellement pertinentes entre les covariables ont concerné :

- l'interaction entre « hygrométrie sur les 10 jours précédant la collecte » et « pourcentage du périmètre de la pâture avec strate arborescente » : on s'attendait à ce niveau à ce que l'abondance des tiques sur une pâture apparaisse d'autant plus grande que les valeurs prises par les deux variables étaient élevées, une valeur faible de l'une ou l'autre des variables devant être limitante vis-à-vis de l'abondance des tiques ;
- l'interaction entre « nombre de nymphes dans le bois le plus proche » et « distance bois-pâture < 20 m » : a priori, l'augmentation de la densité de tiques sur une pâture devait être fonction de la densité de tiques dans le bois, si ce dernier était éloigné de moins de 20 m de la pâture ;
- l'interaction entre « nombre de nymphes dans le bois le plus proche » et « pourcentage du périmètre de la pâture avec strate arborescente » : même idée que précédemment, la présence d'arbres sur le périmètre de la pâture pouvant correspondre à une sorte de connexion de la pâture avec le bois le plus proche et être donc favorable à l'abondance des tiques, et à l'inverse l'absence d'arbres devant être limitante vis-à-vis de cette abondance ;
- l'interaction « nombre de nymphes dans le bois le plus proche » et « hygrométrie minimum sur les 10 jours précédents la collecte » : même idée que précédemment, avec l'hygrométrie en lieu et place du pourcentage du périmètre de la pâture avec strate arborescente.



Ligne 1 : Strate arborescente (% du périmètre de la pâture)
Ligne 2 : Nb de nymphes dans le bois le plus proche



Ligne 1 : Strate arborescente (% du périmètre de la pâture)
Ligne 2 : Hygrométrie minimum sur les 10 jours précédents la collecte (%)

Figure 21 : « Boîtes à moustache » représentant deux interactions considérées durant l'analyse des données « Combrailles 2003 ».

A) Interaction entre le nombre de nymphes *I. ricinus* dans le bois le plus proche et le pourcentage du périmètre de la pâture avec une strate arborescente, B) Interaction entre l'hygrométrie sur les 10 jours précédant la collecte et le pourcentage du périmètre de la pâture avec une strate arborescente (interaction retenue).

Le test de ces interactions via les modèles « pâture » a permis de mettre en lumière, en tant qu'interaction pertinente et significative, l'interaction entre l'hygrométrie sur les 10 jours précédant la collecte et le pourcentage du périmètre de la pâture avec strate arborescente. Les autres interactions n'ont pas été retenues (Figure 21). Pour ce qui concerne les covariables « tranche », nous avons visualisé deux à deux les effets des variables « caractéristiques du paysage : ce qu'il y a bord de la tranche », « caractéristiques du paysage : ce qu'il y a de l'autre côté de la clôture » et « distance bois-tranche < 20 m », sans voir de tendances nettes se dégager.

II.2.3 Ajustements

La régression linéaire généralisée du modèle de Poisson a donné une déviance de 4428 pour 1066 degrés de liberté, une variable aléatoire suivant un χ^2 à 1066 degrés de liberté n'ayant que 5% de chances de dépasser 1143. Les données apparaissent donc surdispersées par rapport à la loi de Poisson. D'ailleurs, les fréquences prédites par la loi de Poisson ne s'accordaient que très imparfaitement aux données observées (Figure 22). Pour ce qui est de la loi ZIP, elle prédisait correctement le nombre de tranches dépourvues de nymphes, mais sous estimait le nombre de tranches dans lesquelles une seule nymphe avait été collectée. Quant aux lois NB et ZINB, elles semblaient toutes les deux satisfaisantes. Néanmoins, elles ont été départagées par le test de Vuong (Tableau 9) : la NB est la loi la plus efficace des quatre.

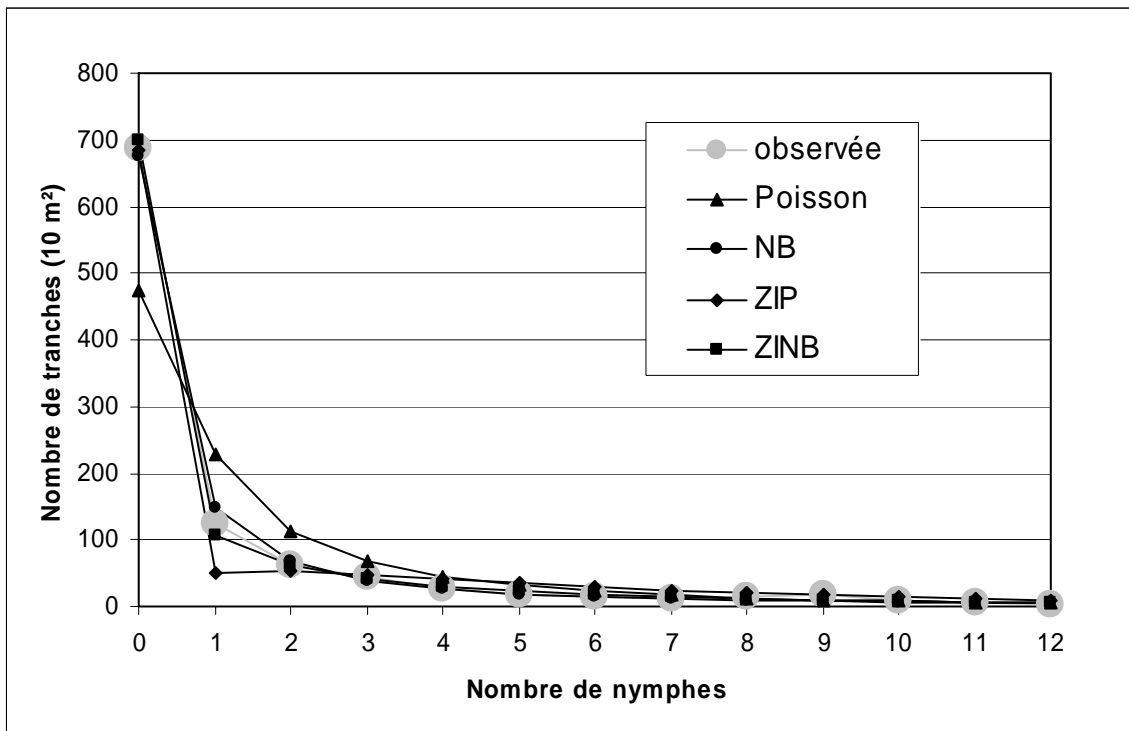


Figure 22 : Ajustements des lois de Poisson, ZIP, NB et ZINB aux nombres de nymphes par tranche (données Combrailles 2003).

Tableau 9 : Tests de Vuong pour la comparaison des ajustements de quatre lois de probabilité (données Combrailles 2003).

Un nombre supérieur à 1,96 est favorable à la loi inscrite en ligne. Un nombre inférieur à -1,96 est favorable à la loi inscrite en colonne.

	Poisson	NB	ZIP
NB	9,45		
ZIP	0,63	-5,87	
ZINB	9,29	-3,01	5,85

II.2.4 Discussion

A travers l'ajustement d'un modèle probabiliste, il est possible de tester les effets des variables les uns par rapport aux autres, à condition que la variance des observations soit correctement prise en compte par le modèle. En effet, si la variance des observations est trop grande par rapport à la loi de distribution choisie, les variances des paramètres sont sous-estimées et les tests canoniques de la significativité des facteurs ne sont plus adaptés. C'est pourquoi, en prémisses à la modélisation, nous avons recherché la distribution qui semblait la mieux adaptée à nos données.

Si nous avons pu considérer dans nos études l'ensemble des facteurs d'abondance des tiques, le nombre de tiques par unité de surface aurait dû suivre une loi de Poisson. Or, lorsque nous avons ajusté cette loi à nos observations en prenant en compte les facteurs explicatifs potentiels, nous avons vu que la distribution observée était toujours surdispersée par rapport à cette loi. Ceci témoigne que certains facteurs d'abondance n'ont pas été pris en compte dans nos études.

Parmi les trois autres lois ajustées, NB et ZINB semblaient donc toutes deux satisfaisantes. Le test de Vuong a permis de les départager, et plaidait en faveur de la plus simple, en l'occurrence de NB. L'hypothèse concernant le partage des tranches en deux catégories (tranches aptes ou non à la présence de nymphes) n'apparaît finalement pas étayée. Cela peut partiellement s'expliquer par le fait que nous avons échantillonné des sites où nous pensions avoir a priori des chances de trouver des tiques ; les bordures des pâtures à génisses – pâtures qui sont en général les moins bien entretenues, les plus éloignées des exploitations et éventuellement les plus humides – sont en effet propices à abriter les Ixodes du complexe *I. ricinus* (*I. ricinus* : L'Hostis *et al.*, 1995b ; *I. scapularis* : Schmidtman *et al.*, 1998). Par ailleurs, nous avons une idée des facteurs jouant sur l'absence de tiques, par exemple, le fait que la tranche se trouve en pleine prairie (plus exactement, dans le cas de notre protocole, à la limite de deux prairies séparées par une simple clôture et ne comportant aucune haie). Nous avons néanmoins testé des modèles (ZIP et ZINB) avec charge en zéro, car nous avons pensé que notre méconnaissance des informations concernant le passage des animaux hôtes pouvait aboutir à diviser les tranches en deux catégories cachées, celles parcourues par des hôtes d'*I. ricinus* et celles ne l'étant pas. Mais comme la loi NB est apparue la plus apte à

modéliser nos données, on ne peut pas affirmer qu'il y a sur les prairies pâturées des tranches sur lesquelles les hôtes vont, et d'autres sur lesquelles ils ne vont pas.

La loi NB, qui résume le mieux nos données, est habituellement utilisée pour modéliser des phénomènes agrégatifs. Dans notre cas, c'est l'hypothèse que nous ne disposons pas, via les variables explicatives, de l'ensemble des facteurs d'abondance, qui nous a fait tester l'ajustement de la loi NB aux données ; en outre, nous avons pensé que le phénomène d'agrégation pouvait être une conséquence logique de la biologie d'*I. ricinus* à travers les éventuelles raisons suivantes :

- les endroits favorables attireraient les nymphes, qui se déplaceraient jusqu'à eux (les tiques se déplacent peu par elles-mêmes, mais à l'échelle du micro-habitat, cela peut-il justifier une agrégation ?), ou bien les tiques mourraient dans les endroits défavorables. Néanmoins, comme nous avons pris en compte des variables qualifiant a priori ce qu'est un lieu attirant pour une nymphe (à moins que nous n'ayons pas considéré les bonnes variables), l'agrégation liée au caractère favorable ou défavorable d'un tel lieu ne semble pas être la raison majeure qui conduit les données à être bien ajustées par la loi NB ;
- les larves se détacheraient simultanément de leurs hôtes. Eclorant en amas sur le sol, plusieurs d'entre elles iraient s'attacher en même temps sur le même hôte, seraient repues à peu près en même temps, et se détacheraient en conséquence plus ou moins simultanément. Pourtant, les expériences de gorgement de tiques en laboratoire ne montrent pas une telle simultanéité (Matuschka *et al.*, 1990 ; Matuschka *et al.*, 1991). En va-t-il différemment dans la nature ? Quel est le laps de temps à considérer pour juger de la coïncidence des événements de détachement ? Le détachement se passe d'ailleurs peut-être différemment, selon qu'*I. ricinus* se trouve sur des micromammifères très rapides ou sur des bovins paisibles.

Cette deuxième raison accentue l'hypothèse d'une hétérogénéité des tranches sous la dépendance des cofacteurs qu'il ne nous est pas possible de prendre en compte. La loi NB nous permet en fait de nous « affranchir » de ces connaissances et de pouvoir tester avec une bonne efficacité statistique les effets des facteurs dont nous disposons.

II.3 Caractérisation des facteurs de variation de l'abondance de nymphes d'*Ixodes ricinus* sur les pâtures

II.3.1 Modèle basé sur les collectes effectuées dans les Combrailles en 2003 : Publications n°1 et 2

L'analyse des données de 2003 a fait l'objet de la publication d'un article de recherche et d'un article à vocation de transfert destiné aux professionnels de la santé animale :

Boyard, C., Barnouin, J., Gasqui, P. et Vourc'h, G. (2007a). Local environmental factors characterizing *Ixodes ricinus* nymph abundance in grazed permanent pastures for cattle. *Parasitology* **134**, 987-994.
doi:10.1017/S0031182007002351.

Boyard, C., Gasqui, P., Barnouin, J. et Vourc'h, G. (2007b). Comment diminuer le risque de maladies transmises par les tiques chez les bovins au pâturage? *Bulletin des GTV* **41**, 101-106.

Résumé des publications 1 et 2 :

L'abondance des tiques *I. ricinus* a été le plus souvent étudiée en milieu boisé, bien que cette tique ne soit pas absente des prairies, qui sont des lieux de rencontre privilégiés entre les animaux domestiques, les animaux sauvage et l'Homme.

Afin d'identifier les facteurs environnementaux caractérisant les variations d'abondance des nymphes *I. ricinus* à l'échelle d'une pâture, nous avons tiré au sort 61 éleveurs de la région des Combrailles (échantillon correspondant à 5% du nombre total d'éleveurs de la zone), dont le cheptel était constitué d'au moins 30 bovins. La région des Combrailles, située dans le Centre de la France, a été choisie en raison de l'endémicité constatée dans cette région de la maladie de Lyme chez l'Homme et de la babésiose chez les Bovins. Au niveau de chaque élevage, une pâture de prairie naturelle abritant des génisses depuis au moins deux saisons de pâturage a été sélectionnée en tant que site d'étude.

Les tiques ont été collectées par la technique du drapeau une fois par pâture entre mai et juin 2003. La collecte des tiques a été effectuée, sur un tiers du périmètre de la pâture, sur des « tranches » de 10 m² (10 m x 1 m) espacées de 20 m.

Les nymphes ont été également collectées via 10 tranches échantillonnées dans le bois le plus proche de la pâture. Le nombre de nymphes collectées dans le bois a été étudié en tant que covariable de la variation de l'abondance des nymphes dans les prairies. Au total, 155 covariables ont été considérées, qui décrivaient, la situation géographique de la pâture, sa topologie, la date et l'heure de collecte, la météorologie, les éléments paysagers entourant la pâture, les espèces végétales rencontrées, la présence de bovins sur les pâtures et les tableaux de chasse communaux pour les chevreuils et les sangliers.

Dans une première étape, les covariables ont été confrontées au nombre de nymphes *I. ricinus* par tranche à l'aide de tests non paramétriques univariés et les variables significatives à $P < 0,1$ retenues pour la suite de l'analyse. Dans une seconde étape, les covariables les plus corrélées entre elles ont été éliminées du processus statistique. Enfin, nous avons ajusté – via une méthode GLM – le nombre de nymphes par tranche par une loi binomiale négative en tenant compte des covariables sélectionnées. Les interactions les plus pertinentes ont été envisagées et le modèle le plus efficace a été choisi selon la procédure descendante du test du rapport de vraisemblance.

La modélisation statistique a permis d'identifier des facteurs influençant l'abondance de nymphes sur les pâtures. Ainsi, l'association d'une hygrométrie supérieure à 58% sur les 10 jours précédant l'échantillonnage et d'un périmètre de pâture bordé à 75 % d'arbres, a très fortement favorisé l'abondance des nymphes sur les pâtures. Ensuite, les facteurs les plus influents ont été la présence de pommiers, de cerisiers et d'une haie sur le pourtour de la pâture, la proximité d'un bois et le nombre de nymphes collectées dans le bois.

Pour survivre et se reproduire, les tiques ont besoin de conditions climatiques non desséchantes et d'animaux hôtes sur lesquels se nourrir. Ces conditions apparaissent réunies dans le cas de pâtures où la végétation arborescente des abords peut à la fois aider à maintenir une atmosphère humide et à attirer des animaux hôtes. En outre, *I. ricinus* étant davantage associée aux milieux boisés, les bois seraient susceptibles de jouer le rôle de sources de tiques pour les pâtures via la circulation des animaux sauvages.

La loi binomiale négative, qui a permis de mettre en lumière, via le modèle construit, des facteurs d'abondance des tiques sur les prairies, ne permet pas d'inférer sur les mécanismes mis en cause dans l'abondance, mais uniquement sur leurs effets. A partir des résultats obtenus, des recommandations ont cependant été proposées, afin d'éviter aux bovins d'être trop souvent la proie des tiques dans les zones à risque élevé :

- éviter de faire pâturer les bovins sur des pâtures à risque pendant les périodes de fortes hygrométries, en réservant ces pâtures pour des temps plus secs ;
- éviter d'attirer les animaux sauvages en proscrivant la plantation d'arbres fruitiers dans les pâtures ou sur le périmètre des pâtures ;
- éviter que les bovins aillent au contact des haies, en ménageant un espace d'au moins deux mètres environ entre les vaches et la haie, si la haie est composée d'arbustes et/ou de broussailles. Dans le cas d'une haie d'arbres dont les branches empièteraient sur la pâture, il conviendrait de placer la clôture à deux mètres de l'extrémité de ces branches ;
- entretenir les bordures dans l'optique de limiter l'apparition des broussailles ;
- ne pas laisser la végétation de sous-bois gagner du terrain sur la pâture.

Local environmental factors characterizing *Ixodes ricinus* nymph abundance in grazed permanent pastures for cattle

C. BOYARD, J. BARNOUIN*, P. GASQUI and G. VOURC'H

INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), UR346 Epidémiologie Animale, F-63122 Saint Genès Champanelle, France

(Received 9 November 2006; revised 6 December 2006; accepted 15 December 2006; first published online 12 February 2007)

SUMMARY

Although *Ixodes ricinus* ticks are mainly associated with woodland, they are also present in open habitat such as pastures. The distribution of nymphal *I. ricinus* was monitored by drag sampling the vegetation in May–June 2003 on 61 grazed permanent pastures for cattle located in central France. After selecting explanatory variables from among a set of 155, tick abundance was modelled on the perimeter of the pasture using a negative binomial model that took into account data overdispersion. An abundant tree layer at the perimeter of the pasture associated with a high humidity before sampling greatly enhanced the average number of captured *I. ricinus* nymphs. The presence of apple or cherry trees around the pasture perimeter, the presence of trees or bushes at the pasture edge, woodland around the pasture and a high number of *I. ricinus* nymphs in the nearest woodland to the pasture were also favourable to nymph abundance in the pasture. The study highlighted that woodland vegetation associated with humidity and the presence of attractive foraging areas for tick hosts around the pasture played a key role in the abundance of *I. ricinus*. Finally, the results raised the question of whether and how transfer of ticks between woodland and grazed pastures occurs.

Key words: *Ixodes ricinus*, questing nymph, abundance, pasture, woodland, negative binomial model, cherry, apple.

INTRODUCTION

The *Ixodes ricinus* tick complex has been associated with several emerging diseases (Parola and Raoult, 2001; Gray, 2002) mostly through ecosystem modifications (Randolph, 2001). Thus, evaluating and understanding environmental factors for tick abundance appears to be of prime importance for better control of tick-borne diseases.

Numerous studies have investigated the distribution of ticks in woodland, as a key habitat for *I. ricinus* (Gilot *et al.* 1975; Aeschlimann, 1981; Gray, 1998). However, other habitats such as grazed permanent pasture, a meeting point for tick, wild fauna, livestock and humans, can host many ticks (Milne, 1946; Gray *et al.* 1995; L'Hostis *et al.* 1995*b*; Mémeteau *et al.* 1998; Walker *et al.* 2001) and play an important role in the epidemiology of tick-borne diseases. Nevertheless, studies concerning *I. ricinus* distribution on grazed pastures are scarce. In France, L'Hostis *et al.* (1995*b*) stated that *I. ricinus* abundance on pastures was closely related to the vicinity of woodland. Mémeteau *et al.* (1998) displayed similar results for the presence of ticks, but failed to analyse factors for the abundance of ticks because of

data overdispersion. Moreover Walker *et al.* (2001) observed in Scotland a lower abundance of *I. ricinus* nymphs and adults in grassland than in woodland, and Gray *et al.* (1995) associated the abundance of ticks on pastures with the availability of hosts in the Connemara region, Ireland.

The purpose of the present study was to identify, using a negative binomial model, the local environmental factors which characterized the abundance of *I. ricinus* nymphs on grazed permanent pastures, as the most pertinent stage to study tick-borne disease risks (p. 103, Eisen and Lane, 2002). The study was set in a French region where human Lyme disease (Arzouni, 1990) and bovine babesiosis (L'Hostis *et al.* 1995*a*) are endemic. As *I. ricinus* mobility in the free-living nymphal stage is limited to around 1 m in a week (Gray, 1985), the presence of individuals in any specific area was believed to be dependent on where they dropped off from their hosts and on their survival ability. Although such parameters are not easily recordable in field conditions, they can be evaluated through variables related to vegetation, climate and host populations (Gray, 2002).

MATERIALS AND METHODS

Study area and sites

The study was conducted on grazed permanent pastures for cattle located in the Combrailles, a region of the centre part of France including the

* Corresponding author: INRA, UR346 Epidémiologie Animale, F-63122 Saint Genès Champanelle, France. Tel: +33 (0) 4 73 62 41 48. Fax: +33 (0) 4 73 62 45 48. E-mail: barnouin@clermont.inra.fr

Puy-de-Dôme districts of Montaigut, Menat, Pionsat, Saint-Gervais d'Auvergne, Manzat, Pontaumur, and Pontgibaud (latitude: 45°8'–46°2'N; longitude: 2°5'–3°1'E). The Combrailles region is characterized by a patchwork landscape of woodland and pasture for ruminants, a continental climate with oceanic influences, an amount of rainfall ranging from 800 to 1000 mm per year, on average, and an elevation range of 300 to 900 m. Study pastures were chosen as follow: firstly, 5% of cattle farms ($n=61$) of the Combrailles region having more than 30 animals were randomly selected from the exhaustive database of farms provided by the 'Etablissement Départemental de l'Elevage'; secondly, interviews with the farmers were conducted at each selected farm to choose a permanent pasture in which at least 5 heifers grazed for at least 3 months in 2002 and in 2003.

Tick sampling

I. ricinus nymphs were collected in 2003 using a drag sampling method (MacLeod, 1932; Vassallo *et al.* 2000). Tick sampling was performed once in each pasture between 10 am and 4 pm, from 23 April to 11 June, a period corresponding to the spring peak of nymph activity (L'Hostis *et al.* 1995b; Randolph *et al.* 2002). To collect the nymphs, a 1 m × 1 m white towel was pulled across the vegetation along the transect defined by the pasture inner perimeter, as the predominant location of *I. ricinus* in permanent pastures in France (L'Hostis *et al.* 1995b). Along this transect, the towel was dragged over 10 m to demarcate 10 m² subtransects (ST). Such an ST size avoided loss of nymphs by their being rubbed off (Vassallo *et al.* 2000) and allowed a precise study of the variation of landscape characteristics within a pasture. Two consecutive STs were separated by a gap of 20 m to ensure statistical independence between data. After collection, nymphs were counted and placed in a vial with 70% ethanol for later identification.

Explanatory variables

In all, 155 environmental variables were analysed as potential factors for nymph distribution. Pasture variables ($n=151$) corresponded to date and hour of the start of tick sampling, to geographical coordinates, and to climate, soil, landscape and vegetation descriptors. As tick activity and development are regulated by humidity and temperature (Gray, 1998), the corresponding climatic parameters were recorded at local and general levels. Local humidity and temperature were measured on the ground during tick collection using an electronic hygrometer and thermometer. The percentage of cloud cover was estimated at the beginning of tick collection. General

climatic data, provided by Météo-France from the meteorological station of Saint-Gervais d'Auvergne, were total amount of rainfall, minimum and maximum temperature and humidity for the day of sampling and for the 10 days before the day of sampling. Moreover, a composite soil sample was collected in each study pasture from 10 mixed sub-samples and sent for analysis to a reference laboratory (Laboratoire INRA d'Analyse des Sols, Arras, France). Soil analytical parameters were particulate fractions (% of clay, fine silt, coarse silt, fine sand, and coarse sand), pH, and carbon/nitrogen ratio. Landscape and vegetation variables concerned distances from the pasture to the nearest house, to the nearest road and to the nearest woodland, water presence within the pasture (ponds, brooks), numbers of deciduous, coniferous and mixed woodland within a radius of 2 km around the pasture according to Corine Land Cover data-base (CLC2000, 100 m, European Environment Agency), presence of plant species (Table 1) around the pasture perimeter (tree layer: number of species $n=33$; bush layer: $n=37$; field layer: $n=9$) and percentage of the pasture perimeter with tree or bush layer. Host populations were evaluated through local deer (*Capreolus capreolus*) and wild boar (*Sus scrofa*) hunting tables for 2002–2003, and through the number and date of arrival of cattle onto the pasture. In addition, the abundance of *I. ricinus* nymphs in the nearest woodland was evaluated from the total number of nymphs collected in the woodland on 10 randomly selected ST. ST variables ($n=4$) included grass height, characteristics of ST border (enclosure-wall, bush, or tree) and of ST outside (i.e. what lies beyond the ST border up to 20 m: road-path-building-river, under cultivation, pasture, bush, or tree), and whether or not the ST-nearest wood distance was less than 20 m.

Database

The study data were stored in an Access 2000 (Microsoft France, Courtaboeuf, France) relational database organized in 16 tables. Checking procedures for data validity were conducted, which consisted of inspecting the record forms completed in the field and on implementing automatic procedures to detect and correct erroneous entries.

Statistical analysis

The association between *I. ricinus* nymph number per ST and environmental factors was screened using generalized linear models (GLM) (McCullagh and Nelder, 1991) through the statistical software 'R' (R Development Core Team, 2005). The programmes implemented for data analysis are available on request.

Table 1. Vegetation species recorded in grazed permanent pastures of the Combrailles region in France

(1, Field layer; 2, bush layer; 3, tree layer.)

Species	Layer
<i>Abies spp.</i>	2,3
<i>Acer spp.</i>	2,3
<i>Aesculus hippocastanum</i>	3
<i>Alnus spp.</i>	2,3
<i>Betula spp.</i>	2,3
<i>Carpinus betulus</i>	3
<i>Castanea sativa</i>	3
<i>Cedrus atlantica</i>	3
<i>Cirsium acaulon</i>	1
<i>Clematis spp.</i>	2
<i>Cornus spp.</i>	2,3
<i>Corylus avellana</i>	2,3
<i>Crataegus spp.</i>	2,3
<i>Eunonymus europaea</i>	2,3
<i>Fagus sylvatica</i>	2,3
<i>Fraxinus excelsior</i>	2,3
<i>Galium spp.</i>	1
<i>Genista spp.</i>	1,2
<i>Hedera helix</i>	2
<i>Humulus lupulus</i>	2
<i>Ilex aquilifolium</i>	2,3
<i>Juglans regia</i>	3
<i>Juncus conglomeratus</i>	1
<i>Ligustrum lucidum</i>	2,3
<i>Lonicera periclymenum</i>	2
<i>Malus spp.</i>	2,3
<i>Picea spp.</i>	3
<i>Pinus spp.</i>	2,3
<i>Poaceae spp.</i>	1
<i>Populus spp.</i>	2,3
<i>Populus tremula</i>	3
<i>Prunus avium</i>	2,3
<i>Prunus cerisier</i>	2,3
<i>Prunus prunier</i>	2,3
<i>Prunus spinosa</i>	2
<i>Pteridium aquilifolium</i>	1
<i>Pyrus communis</i>	3
<i>Quercus spp.</i>	2,3
<i>Rosa spp.</i>	2,3
<i>Rubus spp.</i>	2
<i>Salix spp.</i>	2,3
<i>Sambucus spp.</i>	2
<i>Sorbus spp.</i>	2,3
<i>Tamus communis</i>	2
<i>Taraxacum officinale</i>	1
<i>Thuja spp.</i>	2
<i>Tilia spp.</i>	3
<i>Trifolium repens</i>	1
<i>Ulmus carpiniifolia</i>	2,3
<i>Urtica dioica</i>	1
<i>Vaccinium myrtillus</i>	2
<i>Viburnum lantana</i>	2,3
<i>Viscum album</i>	2
<i>Vitis vinifera</i>	2

The statistical process included 2 steps. In the first step, variable selection was performed using univariate tests. Quantitative variables were divided into 2 or 3 categories of equal size depending on variable distribution. Kruskal-Wallis tests and rank sum

tests were respectively used for qualitative and binary data. Variables with P -value < 0.1 were selected as potential candidates for the second analysis step. Prior to the second step, correlations among the candidate variables were analysed using chi-square tests. If variables showed correlation (P -value < 0.05), the less significant through the univariate tests was removed. Moreover, plausible biological interactions between candidate variables were tested. In the second analysis step, the selected variables, and interactions were offered to a negative binomial model in which the dependent variable was the number of nymphs per ST. Such a model, commonly used to model parasite burden (Shaw and Dobson, 1995), takes account of overdispersion, a phenomenon which was highlighted in the studies of L'Hostis *et al.* (1995b) and of Vassallo *et al.* (2000). The negative binomial distribution was adjusted for overdispersion using the Breslow procedure (Breslow, 1984) which estimates a \emptyset dispersion parameter through the `glm.poisson.disp` function of R (Scrucca, 2003). The candidate variables were offered to the model with the best fit using backward elimination at $P < 0.05$. Finally, the remaining significant factors for the number of nymphs per ST were displayed and the adjustment of the fitted distribution was assessed using a chi-square test.

RESULTS

Tick population

A total of 2772 *I. ricinus* nymphs were captured on 1089 ST (average number of nymphs per ST = 2.55 ± 8.38 , range = 0 to 143; average ST number per pasture = 17.85 ± 7.63 , range = 7 to 48). No nymphs were captured on 63% of the ST, while 25% of the ST contained 95% of the captured nymphs (Fig. 1). The average density of *I. ricinus* nymphs per pasture was 27.1 per 100 m² (± 61.7 , range = 0 to 388.2). Only 3 pastures contained no nymphs, while 26 had more than 1 captured nymph per ST.

Univariate variable selection

A total of 14 pasture and 3 ST variables were significantly associated with tick distribution at $P < 0.1$ (Table 2). Date and hour of tick sampling were not significant factors, as were pasture geographical coordinates. From the associated variables, 6 pasture variables were removed because they were inter-correlated (average humidity over 10 days before sampling, temperature amplitude over 10 days, oaks on pasture perimeter, pasture-nearest house distance < 100 m, fraction of coarse sand, soil carbon/nitrogen ratio). Finally, 8 pasture and 3 ST variables were selected for the GLM analysis. One significant interaction was identified among the selected variables, which concerned 2 pasture variables: minimum humidity over 10 days before sampling (HYG) and

Table 2. Univariate correlations between abundance of *Ixodes ricinus* nymphs in grazed permanent pastures of the Combrailles region in France and pasture or subtransect variables

(Only variables with a *P*-value <0.1 are displayed. Statistics and *P*-values were calculated by Kruskal-Wallis rank correlations or by rank sum tests for respectively qualitative (a) and binary (b) data.)

	Statistics	<i>P</i> -value
Pasture variable		
Distance pasture-nearest woodland <20 m ^b	2.319	0.010
Distance pasture-nearest house <100 m ^b	-2.186	0.014
Pasture perimeter with tree layer (%) ^a	12.360	0.002
Soil fraction of coarse sand (%) ^a	5.310	0.070
Soil carbon/nitrogen ratio ^a	8.216	0.016
Daily minimum humidity over 10 days before sampling (%) ^a	8.273	0.016
Daily average humidity over 10 days before sampling (%) ^a	9.923	0.007
Temperature amplitude over 10 days before sampling (°C) ^a	5.286	0.071
Abundance of nymphs in the nearest woodland ^a	10.113	0.006
Oaks (<i>Quercus</i> spp.) on the pasture perimeter ^a	9.196	0.010
Apple and crab apple trees (<i>Malus</i> spp.) on the pasture perimeter ^b	-1.720	0.043
Cherry trees (<i>Prunus cerasus</i> or <i>P. avium</i>) on the pasture perimeter ^b	-2.853	0.002
Wayfaring trees (<i>Viburnum lantana</i>) on the pasture perimeter ^b	1.856	0.032
Nettles (<i>Urtica dioica</i>) on pasture perimeter ^b	-2.556	0.005
Subtransect variable		
Border characteristic ^a	48.016	<0.001
Outside characteristic ^a	114.004	<0.001
Distance subtransect-nearest woodland <20 m ^b	-7.931	<0.001

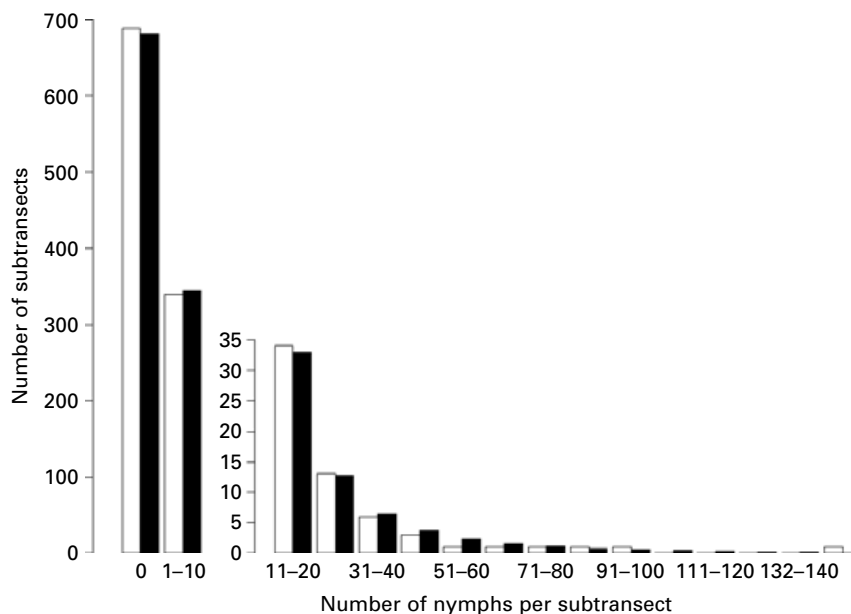


Fig. 1. Observed (white bars) and predicted (black bars) distributions of tick abundance on grazed permanent pastures of the Combrailles region, France. The number of *Ixodes ricinus* nymphs per subtransect (10 m²) was predicted by a negative binomial model adjusted with explanatory variables (see Table 3).

percentage of pasture perimeter with tree layer (TREE). As the interaction variable effects were multiplicative, the higher they were the higher was the probability of nymph capture (Fig. 2).

Abundance analysis

In the final negative binomial model, 8 variables were significant factors for the number of nymphs per ST (Table 3) and the dispersion parameter was 2.58.

According to Fig. 1, the distribution predicted by the final model is very close to the observed distribution. Moreover, the chi-square test indicated that the data fit the model (*P*-value = 0.986).

The interaction HYG × TREE was the most significant factor. If a pasture perimeter contained more than 73% of tree layer and if the daily minimum humidity over 10 days before sampling was higher than 57.9%, the expected number of nymphs was increased by a factor of 20.4. The second strongest

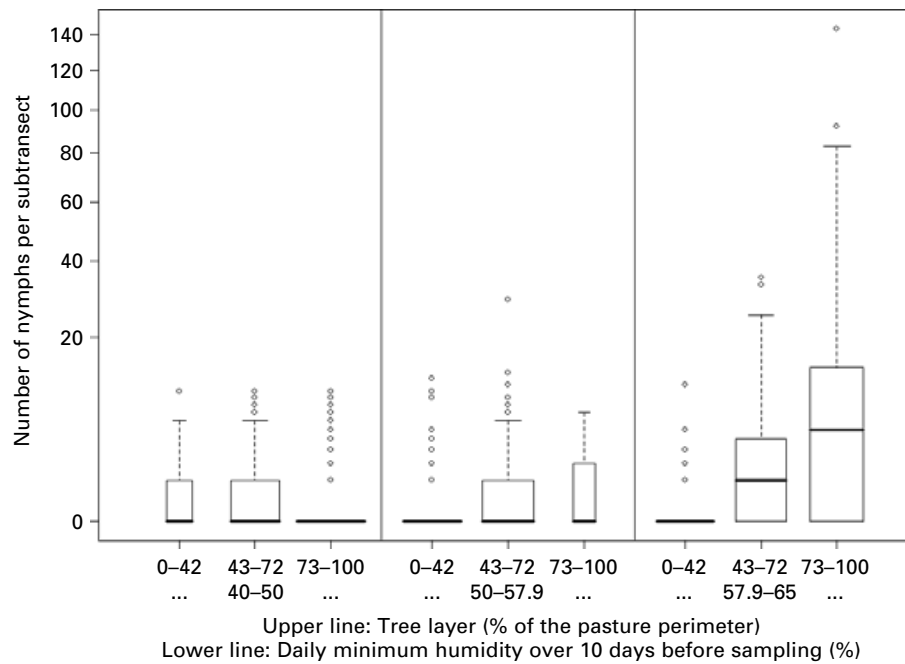


Fig. 2. Boxplot of the effects of the interaction between daily minimum humidity over 10 days before tick sampling and percentage of pasture perimeter with tree layer, on the number of *Ixodes ricinus* nymphs per subtransect on grazed pastures of the Combrailles region, France. The number of *I. ricinus* nymphs is plotted on a square root scale. The median for each dataset is indicated by the black centre line. The first and third quartiles are the edges of the rectangle and the difference represents the interquartile range. The error bars extend to the most extreme data point that is no more than 1.5 times the interquartile range from the box. The width of each box is proportional to the number of pastures in the category.

effect concerned the presence of *Malus* species (apple and crab apple trees) on the pasture perimeter, which increased the expected number of nymphs by a factor of 5.1. The other significant factors were the presence of bushes or trees at the ST outside (4.7- and 4.1-fold increase respectively), a high abundance of nymphs in the nearest woodland (3.9-fold increase), the presence of trees or bushes at the border of the ST (2.3- and 2.1-fold increase respectively), the presence of cherry trees (*Prunus cerasus* or *P. avium*) on the pasture perimeter (1.5-fold increase) and the vicinity of the woodland (1.4-fold increase).

DISCUSSION

I. ricinus is usually associated with woodland and forests, in which densities ranging from 75 to 488 nymphs per 100 m² have been reported (Walker *et al.* 2001; Jouda *et al.* 2004; Ferquel *et al.* 2006). However, the species is also present on pastures (Milne, 1946; Gray *et al.* 1995; L'Hostis *et al.* 1995b; Mémeteau *et al.* 1998; Walker, 2001). In the grazed pastures of the Combrailles region, the average estimated density was 27 nymphs per 100 m² with a maximum of 388. Such a density is of the same order of magnitude as the average estimation of Ferquel *et al.* (2006) in the Alsatian forest in Eastern France. Consequently, it can be stated that in France, grazed

permanent pastures for cattle represent a favourable environment for *I. ricinus*.

Tick abundance on pastures would depend on tick survival and reproduction factors, which are investigated in tick distribution studies by studying numerous biological and environmental variables. However, few studies addressed the quantitative variation of tick abundance analysing simultaneously several explanatory factors. Therefore, the present study involved the collection of a wide variety of variables relevant to the ecosystem of the *I. ricinus* nymphs.

The final negative binomial model highlighted the importance of humidity and woodland vegetation for tick abundance on pasture perimeters. The most discriminating variable was the interaction between daily minimum humidity over 10 days before sampling (HYG) and the percentage of the pasture perimeter with tree layer (TREE). With regards to humidity, numerous authors have underlined its influence on tick populations (MacLeod, 1935; Gray, 1998; Perret *et al.* 2000, 2004). Ticks are sensitive to desiccation and nymphs need at least 80% relative humidity in experimental conditions to survive 15 days at temperatures ranging from 15 °C to 30 °C (MacLeod, 1935). In the environment, *Ixodes* spp. ticks restore their water balance by hiding in the soil upper mat where humidity reaches its maximum (Gray, 2002). Once the water balance of the tick is

Table 3. Final negative binomial models for *Ixodes ricinus* nymph abundance in grazed permanent pastures of the Combrailles region, France(Estimations of linear predictors were considered as asymptotically normally distributed. The symbols *, ** and *** indicate significant factors at respectively P -value <0.05 , P -value <0.01 and P -value <0.001 .)

Variable	Rate parameter	Confidence interval at 95 %		
Subtransect border characteristic				
Enclosure-wall	1	/	/	
Bush	2.082	1.498	2.895	***
Tree	2.273	1.541	3.353	***
Subtransect outside characteristic				
Road-path-building-river	1	/	/	
Under cultivation	2.186	1.117	4.280	*
Pasture	1.752	1.213	2.529	**
Bush	4.723	2.874	7.762	***
Tree	4.118	2.744	6.180	***
Distance pasture-nearest woodland				
> 20 m	1	/	/	
< 20 m	1.421	1.038	1.944	*
Nymphs in the nearest woodland (number/m ²)				
0-0.08	1	/	/	
0.09-0.25	1.868	1.286	2.713	**
0.26-1.48	3.873	2.664	5.631	***
Cherry trees (<i>Prunus cerasus</i> or <i>P. avium</i>) on the pasture perimeter				
Absence	1	/	/	
Presence	1.471	1.104	1.958	**
Apple and crab apple trees (<i>Malus</i> spp.) on the pasture perimeter				
Absence	1	/	/	
Presence	5.142	3.277	8.070	***
Daily minimum humidity over 10 days before sampling (%) (HYG)				
40-50	1	/	/	
50-57.9	0.438	0.218	0.881	*
57.9-65	0.310	0.152	0.632	**
Pasture perimeter with tree layer (%) (TREE)				
0-42	1	/	/	
43-72	0.820	0.411	1.636	
73-100	0.835	0.442	1.576	
Interaction				
HYG (%) TREE (%)	1	/	/	
50-57.9 43-72	5.613	2.274	13.854	***
50-57.9 73-100	3.098	1.235	7.767	*
57.9-65 43-72	9.428	3.920	22.678	***
57.9-65 73-100	20.440	8.686	48.098	***

restored, the higher the relative humidity, the longer *I. ricinus* stays at the tips of grass blades (Perret *et al.* 2003) with a subsequent higher probability of being captured by dragging. The presence of woodland and bushy vegetation on the pasture perimeter would play several key roles in the dynamics of tick populations by providing ticks a shelter with sufficient humidity and a thick litter mat (Gilot *et al.* 1975), and by contributing to the encouragement of hosts seeking shelter. Rodents and other small vertebrates are natural inhabitants of hedgerows, notably *Clethrionomys glareolus* and *Apodemus* spp. (Le Louarn and Quéré, 2003), which are considered as *I. ricinus* larvae and nymph hosts (Humair *et al.* 1999). Moreover, *C. glareolus* is able to venture on pastures (Tattersall *et al.* 2001). The thickets also

provide shelter for roe deer (*Capreolus capreolus*), which are important hosts for *I. ricinus* nymphs and adults (Anderson *et al.* 1998, p. 99; Eisen and Lane, 2002). The maintenance of ticks on the pasture perimeter through wild hosts is also supported by the positive effect on tick abundance of the presence of apple and cherry trees on the pasture perimeter. These fruits are attractive to hosts moving between pasture and woodland, such as roe deer (Putman and Moore, 1998; Vourc'h *et al.* 2002), birds (Stevens and Bont, 1980) and foxes (cherry stones were observed in faeces of foxes hunted in the Combrailles, unpublished observation). While feeding on fruit, hosts would facilitate the attachment or detachment of *I. ricinus* and contribute to the maintenance of a significant population of ticks near fruit trees. Also,

the peak of tick activity in spring and autumn (L'Hostis *et al.* 1995*b*; Randolph *et al.* 2002) coincides with the period at which the fruit ripens (June for cherries and September for apples). At the present time, this study is the first to raise this question, and thus no comparison with other studies can be made to confirm the consistency of using the presence of fruit trees as an indirect indicator of the through-transit of potential hosts. In the Combrailles study, grazing cattle could be considered as a factor for tick dispersion in the pasture environment. Throughout the pasture period (April to October), heifers and cows were in contact with hedge vegetation where they picked up *I. ricinus* ticks and which then dropped off over the entire pasture. In such an open area, tick mortality is likely to be high (L'Hostis *et al.* 1995*b*; L'Hostis and Seegers, 2002). Finally, the contribution of grazing cattle to the dynamics of *I. ricinus* populations would be double-edged, as cattle can both provide a perfect bloodmeal for the questing tick but also increase mortality of gorged ticks that detach in the central part of a pasture. Consequently, it is necessary to consider a tick source for the maintenance of tick populations in a composite environment including positive and negative zones regarding tick viability. In the Combrailles, as nymph abundance on a pasture was positively linked with tick abundance in the nearest woodland and with the vicinity of woodland, the woodland would represent for *I. ricinus* a source for colonization of the pasture through host movements. Considering this hypothesis, the hedgerows could represent host corridors contributing to the arrival of ticks in parts of the pasture that were not in the direct vicinity of woodland. This explains why Carroll *et al.* (1992) advised the maintenance of a gap between forest trees and residential lawns to reduce tick bite risk concerning *I. scapularis*. Transposed to pasture, the recommendation would be to avoid pasture fences coming into contact with hedge vegetation. However, as this probabilistic model performed highlighted correlations, but not a causal mechanism, between tick abundance and environmental factors, the value of recommendations suggested by the authors concerning pasture fences have to be validated through an intervention study. Pasture edges must not be neglected as a potential habitat for *I. ricinus*. Strategies and studies addressing the ecological relationship between ticks, grazed pastures, and woodland must be built to improve the control and understanding of tick populations and tick-borne diseases.

We are thankful to Ginette Sadot, Valérie Poux, Nelly Dorr and all our colleagues and trainees for their efficient and friendly help in field data acquisition and management. Sincere thanks to the Etablissement Départemental de l'Élevage du Puy-de-Dôme, the Région Auvergne, the Syndicat Mixte pour l'Aménagement et le Développement des Combrailles and all the farmers for their collaborative spirit.

REFERENCES

- Aeschlimann, A.** (1981). The role of hosts and environment in the natural dissemination of ticks. Studies on a Swiss population of *Ixodes ricinus* L., 1758. *Review of Advances in Parasitology*, Warszawa 859–869.
- Anderson, R., Duncan, P. and Linnell, J. D. C.** (1998). *The European Roe Deer: the Biology of Success*. Scandinavian University Press, Oxford, UK.
- Arzouni, J.-P.** (1990). Une enquête séro-épidémiologique dans le Puy-de-Dôme, à propos de trois maladies transmissibles par les tiques: la maladie de Lyme, la fièvre boutonneuse méditerranéenne, la fièvre Q. Doctorat en médecine. Université Clermont-Ferrand I.
- Breslow, N. E.** (1984). Extra-Poisson variation in log-linear models. *Applied Statistics* **33**, 38–44.
- Carroll, M. M., Ginsberg, H. S., Hyland, K. E. and Hu, R.** (1992). Distribution of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in residential lawns on Prudence Island, Rhode Island. *Journal of Medical Entomology* **29**, 1052–1055.
- Eisen, L. and Lane, R. S.** (2002). Vectors of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. In *Lyme Borreliosis: Biology, Epidemiology and Control* (ed. Gray, J. S., Kahl, S. O., Lane, R. S. and Stanek, G.), pp. 91–115. CAB International, Trowbridge, UK.
- Ferquel, E., Garnier, M., Marie, J., Bernede-Bauduin, C., Baranton, G., Perez-Eid, C. and Postic, D.** (2006). Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasmatocae* members in *Ixodes ricinus* ticks in Alsace, a focus of Lyme borreliosis endemicity in France. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 3074–3078.
- Gilot, B., Pautou, G. and Moncada, E.** (1975). L'analyse de la végétation appliquée à la détection des populations de tiques exophiles dans le Sud-Est de la France: l'exemple d'*Ixodes ricinus* (Linné 1798) (Acarina, Ixodoidea). *Acta Tropica Separatum* **32**, 340–347.
- Gray, J. S.** (1985). A carbon dioxide trap for prolonged sampling of *Ixodes ricinus* L. populations. *Experimental and Applied Acarology* **1**, 35–44. doi: 10.1007/BF01262198.
- Gray, J. S.** (1998). Review: The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. *Experimental and Applied Acarology* **22**, 249–258.
- Gray, J. S.** (2002). Biology of *Ixodes* species ticks in relation to tick-borne zoonoses. *Wien Klinische Wochenschrift* **114**, 473–478.
- Gray, J. S., Kahl, O., Janetzki, C., Stein, J. and Guy, E.** (1995). The spatial-distribution of *Borrelia burgdorferi* infected *Ixodes ricinus* in the Connemara region of county Galway, Ireland. *Experimental and Applied Acarology* **19**, 163–172.
- Humair, P. F., Rais, O. and Gern, L.** (1999). Transmission of *Borrelia afzelii* from *Apodemus* mice and *Clethrionomys voles* to *Ixodes ricinus* ticks: differential transmission pattern and overwintering maintenance. *Parasitology* **118**, 33–42.
- Jouda, F., Perret, J. L. and Gern, L.** (2004). *Ixodes ricinus* density, and distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection along an altitudinal gradient. *Journal of Medical Entomology* **41**, 162–169.

- Le Louarn, H. and Quéré, J.-P.** (2003). *Les Rongeurs de France : Faunistique et Biologie*, 2e Edn. INRA, Paris, France.
- L'Hostis, M., Chauvin, A., Valentin, A., Marchand, A. and Gorenflot, A.** (1995 a). Large scale survey of bovine babesiosis due to *Babesia divergens* in France. *The Veterinary Record* **14**, 36–38.
- L'Hostis, M., Dumon, H., Dorchies, B., Boisdron, F. and Gorenflot, A.** (1995 a). Seasonal incidence and ecology of the tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on grazing pastures in Western France. *Experimental and Applied Acarology* **19**, 211–220.
- L'Hostis, M. and Seegers, H.** (2002). Tick-borne parasitic diseases in cattle: current knowledge and prospective risk analysis related to the ongoing evolution in French cattle farming systems. *Veterinary Research* **33**, 599–611.
- MacLeod, J.** (1932). The bionomics of *Ixodes ricinus* L., the “sheep tick” of Scotland. *Parasitology* **24**, 382–400.
- MacLeod, J.** (1935). *Ixodes ricinus* in relation to its physical environment. II. Factors governing survival and activity. *Parasitology* **27**, 123–144.
- McCullagh, P. and Nelder, J. A.** (1991). *Generalized Linear Models*, 2nd Edn. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Mémeteau, S., Seegers, H., Jolivet, F. and L'Hostis, M.** (1998). Assessment of the risk of infestation of pastures by *Ixodes ricinus* due to their phyto-ecological characteristics. *Veterinary Research* **29**, 487–496. ISSN: 0928-4249.
- Milne, M. A.** (1946). The ecology of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. Distribution of the tick on hill grazing pasture. *Parasitology* **37**, 75–81.
- Parola, P. and Raoult, D.** (2001). Review article: ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases* **32**, 897–928.
- Perret, J.-L., Guerin, P. M., Diehl, P. A., Vlimant, M. and Gern, L.** (2003). Darkness induces mobility, and saturation deficit limits questing duration, in the tick *Ixodes ricinus*. *The Journal of Experimental Biology* **206**, 1809–1815.
- Perret, J.-L., Guigoz, E., Rais, O. and Gern, L.** (2000). Influence of saturation deficit and temperature on *Ixodes ricinus* tick quest activity in a Lyme borreliosis-endemic area (Switzerland). *Parasitology Research* **86**, 554–557.
- Perret, J.-L., Rais, O. and Gern, L.** (2004). Influence of climate in the proportion of *Ixodes ricinus* nymphs and adults questing in a tick population. *Entomological Society of America* **41**, 361–365.
- Putman, R. J. and Moore, N. P.** (1998). Impact of deer in lowland Britain on agriculture, forestry and conservation habitats. *Mammal Review* **28**, 141–164.
- R Development Core Team** (2005). *R: a Language and Environment for Statistical Computing, Version 2.2.1*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Randolph, S. E.** (2001). The shifting landscape of tick-borne zoonoses: tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis in Europe. *Philosophical Transactions: Biological Sciences* **356**, 1045–1056.
- Randolph, S. E., Green, R. M., Hoodless, A. N. and Peacey, M. F.** (2002). An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick *Ixodes ricinus*. *International Journal for Parasitology* **32**, 979–989.
- Scrucca, L.** (2003). *Dispmod: Dispersion Models, R Package Version 1.0*. Online: <http://cran.r-project.org>, last access: 22/01/2007.
- Shaw, D. J. and Dobson, A. P.** (1995). Patterns of macroparasite abundance and aggregation in wildlife populations: a quantitative review. *Parasitology* **111** (Suppl.), S111–S133.
- Stevens, J. and Bont, A. F. D.** (1980). Choice by starlings (*Sturnus vulgaris* L.) among different cherry cultivars. *Agricultura* **28**, 421–436.
- Tattersall, F. H., Macdonald, D. W., Hart, B. J., Manley, W. J. and Feber, R. E.** (2001). Habitat use by wood mice (*Apodemus sylvaticus*) in a changeable arable landscape. *Journal of Zoology (London)* **255**, 487–494.
- Vassallo, M., Pichon, B., Cabaret, J., Figureau, C. and Pérez-Eid, C.** (2000). Methodology for sampling questing nymphs of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), the principal vector of Lyme disease in Europe. *Entomological Society of America* **37**, 335–339.
- Vourc'h, G., De Garine-Wichatitsky, M., Labbé, A., Rosolowski, D., Martin, J.-L. and Fritz, H.** (2002). Monoterpene effect on feeding choice by deer. *Journal of Chemical Ecology* **28**, 2411–2427.
- Walker, A. R.** (2001). Age structure of a population of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in relation to its seasonal questing. *Bulletin of Entomological Research* **91**, 69–78. doi: 10.1079/BER200065.
- Walker, A. R., Alberdi, M. P., Urquhart, K. A. and Rose, H.** (2001). Risk factors in habitats of the tick *Ixodes ricinus* influencing human exposure to *Ehrlichia phagocytophila* bacteria. *Medical and Veterinary Entomology* **15**, 40–49.

Comment diminuer le **risque de maladies transmises par les tiques** chez les bovins au pâturage ?

La limitation du développement des tiques est un enjeu actuel de santé publique vétérinaire. Les résultats de cette étude permettent de proposer quelques recommandations pour réduire l'infestation des bovins dans les zones à risque.

L'incidence de certaines maladies transmises par les tiques est en augmentation depuis ces vingt dernières années en Europe. C'est le cas notamment pour la babésiose et la maladie de Lyme qui sont considérées comme émergentes [18]. Chez les animaux d'élevage, certaines affections ont une réelle importance économique, en particulier la babésiose bovine. D'autres maladies, comme la borréliose de Lyme, sont moins documentées en ce qui concerne les animaux, mais constituent un enjeu de taille en médecine humaine. Chaque année, l'évolution mensuelle de l'incidence des maladies transmises par les tiques suit celle de l'abondance du vecteur [11, 13]. En outre, il semble qu'une augmentation d'abondance globale des tiques ces dernières années soit à l'origine de la croissance de l'incidence des maladies qu'elles vectorisent [18].

En France, la tique *Ixodes ricinus* est à l'origine de nombreuses maladies, dont la babésiose bovine et la borréliose de Lyme. Couramment rencontrée dans les bois, elle est aussi présente dans les friches et les pâtures, lieux de rencontre avec les bovins et l'Homme. Cependant, si *I. ricinus* semble survivre dans les pâtures, il pourrait être possible d'en limiter l'abondance.

Dans la lutte contre les maladies transmises par les tiques, la compréhension de la dyna-

RÉSUMÉ

Les maladies transmises par les tiques constituent un véritable enjeu vétérinaire chez les bovins. L'augmentation de l'incidence de ces maladies n'est pas seulement due à l'amélioration des diagnostics, mais peut être également rapprochée de l'augmentation de l'abondance du vecteur. Dans ce contexte, la compréhension de la répartition des tiques est primordiale pour pouvoir contrôler l'impact des maladies vectorisées.

Ixodes ricinus, tique la plus répandue en France, est inféodée aux milieux boisés, mais peut survivre dans les pâtures. L'analyse statistique des données d'abondance de nymphes *I. ricinus*, sur 61 pâtures fréquentées par les bovins, a permis la mise en évidence des facteurs environnementaux favorisant les populations de tiques sur les bords des pâtures. Ainsi, l'association d'une forte hygrométrie sur les 10 jours précédant l'échantillonnage (>58%) et d'un périmètre bordé à 75% d'arbres a très fortement favorisé la capture de nymphes *I. ricinus*. Ensuite, les facteurs les plus influents sont : la présence de pommiers et de cerisiers, la présence d'une haie, la proximité d'un bois, et le nombre de nymphes *I. ricinus* dans ce bois.

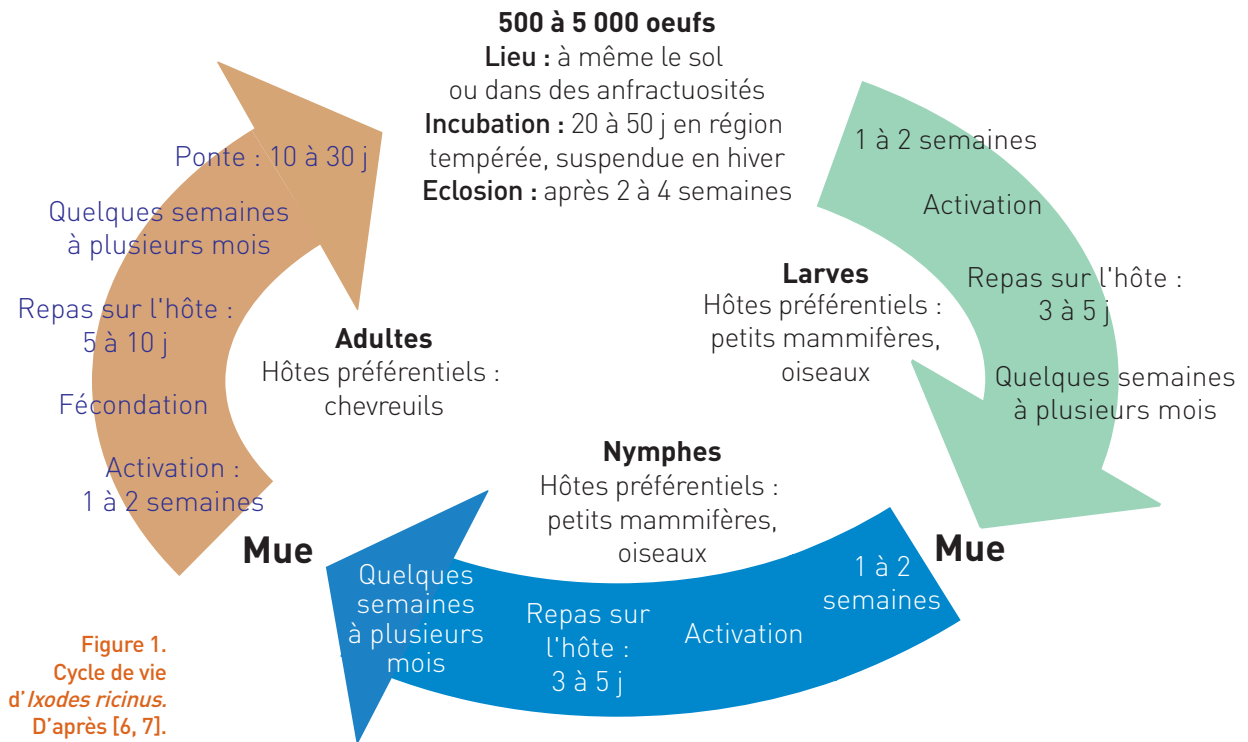
A partir de ces résultats, quelques recommandations peuvent être proposées, afin d'éviter aux bovins d'être trop souvent la proie de ces acariens dans les zones à risque élevé.



Cliché : EUALB

Les différentes stades d'*Ixodes ricinus* à jeun. De gauche à droite : larve, nymphe, adulte mâle, adulte femelle..

mique de population du vecteur constitue un atout essentiel. Nous reviendrons donc d'abord sur l'écologie de la tique *I. ricinus* en relation avec la transmission d'agents pathogènes. Ensuite, nous présenterons une étude, menée par l'unité d'Epidémiologie Animale de l'INRA de Clermont-Ferrand-Theix, sur 61 pâtures de la région des Combrailles, dont le but était d'identifier les facteurs responsables de l'abondance des nymphes de tiques sur les bords des pâtures (les nymphes sont la stase échan-



tillonnée la plus abondante). Enfin, nous dégageons les enseignements apportés par cette étude et tenterons de formuler des recommandations en vue de limiter les contacts entre les animaux d'élevage et les tiques dans les pâtures.

Ecologie d'*Ixodes ricinus*

Cycle de vie et transmission d'agents pathogènes

Le cycle de vie d'*I. ricinus* (Figure 1) dure en moyenne de 2 à 4 ans et se décompose en trois stades : larve, nymphe et adulte. A chaque stade, correspond un stade parasitaire hémato-phage pendant lequel la tique se fixe de 3 à 10 jours sur un hôte. La tique gorgée se détache ensuite pour muer, ou, si c'est une femelle fécondée, pour pondre. Les phases de développement, de mue et de ponte sont réalisées à même le sol. Leur durée est fonction de la température. A jeun, *I. ricinus* a l'aspect d'une graine de ricin, d'où son nom (Photo 1). Gorgée, une adulte femelle peut atteindre la taille d'un petit pois.

Pour initier le gorgement, l'adulte femelle doit être fécondée. La fécondation peut avoir lieu au sol ou sur l'hôte. L'adulte mâle ne se nourrit pas et meurt après l'accouplement. L'adulte femelle pond de 500 à 5000 oeufs, selon la quantité de sang ingérée, avant de se dessécher et de mourir.

I. ricinus est une tique ubiquiste ; elle parasite de très nombreux vertébrés. Cependant,

chaque stade semble développer un tropisme particulier [1] : les larves parasitent davantage les petits mammifères et les oiseaux, les nymphes s'orientent plutôt vers les espèces de taille moyenne, telles que les hérissons, les écureuils, les blaireaux ou les renards, quant aux adultes, ils se nourrissent préférentiellement sur les grands mammifères tels que le chevreuil, qui assure d'ailleurs un bon gorgement des adultes femelles qui pondent d'autant plus d'oeufs. Cette plasticité d'hôte fait d'*I. ricinus* la tique la plus répandue en France et un très bon passeur de pathogènes entre espèces.

Les repas sanguins sont autant d'occasions pour la tique d'acquérir un agent pathogène. L'animal hôte peut présenter une infection généralisée ou un tissu infecté, ou bien l'agent pathogène peut circuler d'une tique à l'autre par co-repas, c'est à dire, qu'une tique infectée va implanter localement l'agent pathogène dans les tissus de l'animal hôte, et une tique naïve se nourrissant à proximité va acquérir cet agent sans que l'hôte soit infecté.

Pour que la transmission puisse s'effectuer au cours du prochain repas de sang, il est nécessaire que l'agent pathogène subsiste après la mue (transmission transtadiale). Lorsqu'il existe une transmission transovarienne en plus de la transmission transtadiale, la tique à elle seule peut jouer le rôle de réservoir de la maladie. C'est le cas d'*I. ricinus* pour la transmission de *Babesia divergens*, agent de la babésiose bovine. Sans transmission transovarienne, seules les nymphes et les adultes sont infectantes.

Saisonnalité du risque

Après éclosion des œufs en larves, ou après la mue pour les nymphes et les adultes, *I. ricinus* entre dans une phase de recherche d'hôte. Elle se place à l'affût sur la végétation et y attend le passage d'un animal. C'est la période d'activité des tiques.

Le temps qui s'écoule entre le moment où la tique gorgée se détache de l'hôte, et le moment où cette même tique entre en activité, est variable. En effet, la tique peut à tout moment de son cycle entrer dans une phase de diapause, ce qui lui permettra de revenir en activité au moment le plus favorable.

L'abondance des tiques en activité peut être mesurée par la méthode du drapeau, technique de référence facile à mettre en œuvre [17]. L'outil de récolte, le drapeau, est constitué d'une pièce de tissu éponge blanc, d'une surface de 1 m², dans laquelle est passée une tringle munie d'une corde. Ce drapeau est tiré sur le sol de façon régulière par le préleveur (Photo 2) et les tiques s'y accrochent, croyant au passage d'un hôte. Cette méthode permet de collecter seulement 5 à 10% des tiques au sol [16], mais donne une indication précise du risque d'être mordu.

On observe deux pics d'activité d'*I. ricinus* sur une année, le premier au printemps, et le second, moins important et plus ou moins marqué selon les régions, en automne [4, 10, 14].

Pendant l'affût au-dessus de la strate herbacée, *I. ricinus* s'expose à un dessèchement. L'organisme de la tique doit être constamment hydraté [6]. Pour cela, la tique quitte régulièrement les hauteurs pour rétablir son équilibre en eau. Les adultes passent environ 30% de leur temps à l'affût. Le reste du temps, ils se réhydratent à même le sol. Les larves et les nymphes, qui sont plus sensibles au dessèchement, passent moins de temps à l'affût [12], ce qui peut expliquer les différences de hauteurs auxquelles les stases attendent les hôtes : les plus sensibles (les larves) restent plus près du sol. En été, période plus sèche, on observe une baisse de l'activité d'*I. ricinus*.

Zone de risque

« L'habitat préféré des tiques » est conditionné d'une part par leur sensibilité au dessèchement, et d'autre part par la présence d'hôtes. *I. ricinus* est ainsi inféodée aux milieux boisés. Pourtant, elle est présente sur les pâtures où le bétail peut servir d'hôte à toutes les stases [6].

Dans ces milieux, l'habitat doit être suffisamment humide. Végétation couvrante ou anfractuosités du terrain à forte humidité sont



Photo 2.
La collecte des tiques au drapeau. Un drapeau est tiré sur une surface de 10m². Le drapeau est ensuite inspecté pour compter le nombre de tiques et

donc des lieux de prédilection pour les tiques, pour autant qu'il y ait passage et regroupement d'animaux hôtes.

Les hôtes permettent non seulement l'établissement et le maintien de populations de tiques, mais sont aussi des réservoirs de maladies. Ainsi, les mulots et les campagnols, qui sont la cible des larves, sont également considérés comme les principaux réservoirs de la maladie de Lyme [8]. Les chevreuils, considérés comme des hôtes de reproduction des tiques, favorisent l'augmentation des densités de tiques dans certaines régions [5, 13].

Etude de l'abondance des nymphes d'*I. ricinus* dans les pâtures

Matériel et méthode

► Site d'étude

L'étude a été conduite dans la région des Combrailles, regroupant 7 cantons du département du Puy-de-Dôme au Nord-Ouest de Clermont-Ferrand (cantons de Montaigut, Menat, Pionsat, Saint-Gervais d'Auvergne, Manzat, Pontaumur, et Pontgibaud). Cette région bocagère forme une mosaïque de forêts et de prairies. Le climat y est continental, avec une influence océanique. Les précipitations varient entre 800 et 1000 mm par an, et l'altitude, entre 300 et 900 m. La borréliose de Lyme chez l'Homme [2] et la babésiose chez les bovins [9] sont endémiques dans cette région.

Les 61 parcelles échantillonnées proviennent de 61 élevages choisis aléatoirement parmi les 1200 élevages listés par l'Etablissement Départemental de l'Élevage (EDE). Parmi l'ensemble des prairies naturelles d'un élevage, nous avons sélectionné la plus petite

ayant contenu au moins 5 génisses pendant 3 mois en 2002 et 2003. Ces parcelles sont généralement plus broussailleuses et plus éloignées de l'exploitation que les parcelles où sont habituellement entretenues les vaches laitières. Elles sont donc susceptibles de recueillir plus de tiques [15].

► Collecte des tiques

Les collectes de tiques ont été réalisées du 23 avril au 11 juin 2003. Cette période correspond au pic d'activité printanier. Le drap a été tiré sur des intervalles de 10 m, appelés « tranches ». Sur chaque tranche, les nymphes et les adultes ont été comptés en même temps que prélevés à l'aide d'une pince, puis ont été plongés dans un tube d'alcool à 70%. Les tiques ont été collectées sur le périmètre de la parcelle en raison du faible pourcentage de tiques retrouvées au centre des pâtures [10]. Nous avons espacé les tranches de 20 mètres afin d'échantillonner un tiers du pourtour de la parcelle. Ce protocole a permis d'assurer l'indépendance statistique des tranches.

► Variables explicatives

Au total, 155 variables explicatives ont été analysées en tant que facteurs potentiels de la distribution des nymphes. Les variables spécifiques aux pâtures (n=151) correspondent à la date et l'heure de la collecte, aux coordonnées géographiques, au climat, au sol, au paysage et à la végétation. Comme l'activité et le développement des tiques sont liés à la température et à l'hygrométrie, les variables climatiques correspondantes ont été enregistrées au niveau local et au niveau plus global de la région étudiée. Température et hygrométrie locale ont été mesurées au sol pendant la collecte à l'aide d'un thermomètre-hygromètre électronique. La couverture nuageuse était également relevée au début de chaque collecte. Les données journalières, fournies par Météo France depuis la station météorologique de Saint-Gervais d'Auvergne, comprennent : les précipitations, le minimum et le maximum de la température et de l'hygrométrie du jour de la collecte, et leurs moyennes pour les 10 jours précédant la collecte. En ce qui concerne le sol, pour chaque pâture, un échantillon constitué de 10 prélèvements a été envoyé pour analyse au laboratoire INRA d'Analyse des Sols à Arras. Nous avons ainsi obtenu la composition granulométrique, le pH, et le rapport carbone sur azote. Les variables du paysage et de la végétation concernent les distances pâture-bois, pâture-habitation, pâture-route, la présence d'eau sur la pâture, le nombre de fragments boisés (conifères, feuillus, mixtes) à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon, la présence des espèces végétales

sur le périmètre de la pâture (strate arborescente : n=33 espèces, arbustive : n=37, herbacée : n=9), le pourcentage du périmètre de la pâture avec une strate arborescente et le pourcentage du périmètre de la pâture avec une strate arbustive. Les populations locales de chevreuils et de sangliers ont été estimées à partir des tableaux de chasse communaux. Le nombre de bovins et leur date d'arrivée sur les pâtures ont également été enregistrés. De plus, l'abondance de nymphes dans le bois le plus proche de la pâture a été estimée à partir du nombre total de nymphes relevé sur 10 tranches dans le bois. Les variables spécifiques aux tranches (n=4) incluent la hauteur de l'herbe, les caractéristiques du bord immédiat de la tranche (3 modalités : barrière-mur, buissons, arbres), les caractéristiques de ce qu'il y a de l'autre côté de la clôture jusqu'à 20 m (4 modalités : route - chemin - bâtiment - eau, pâture, buissons, arbres), la présence d'un bois à moins de 20 m.

► Modélisation statistique

L'analyse statistique a été menée en 2 étapes. Dans un premier temps, nous avons sélectionné les variables corrélées au nombre de nymphes par tranche au moyen de tests univariés. Dans un deuxième temps, les variables sélectionnées ont été entrées dans un modèle linéaire généralisé de loi binomiale négative, la variable à expliquer étant le nombre de nymphes par tranche. Un tel modèle permet de prendre en compte l'agrégation des nymphes, qui, dans l'état actuel de nos connaissances, ne semblent pas distribuées au hasard.

Résultats

► Population de tiques

Au total, 2772 nymphes *I. ricinus* ont été collectées sur 1089 tranches dans les pâtures, pour seulement 51 adultes mâles et 47 adultes femelles. 2 mâles et 13 femelles *Dermacentor reticulatus* ont été également collectés. Nous avons donc mis en évidence une densité moyenne de 2,55 nymphes *I. ricinus* par tranche de 10 m² sur le périmètre des pâtures. 63% des tranches ne contenaient aucune nymphe alors que 25% des tranches contenaient 95% des nymphes collectées. Seulement 3 pâtures ne contenaient aucune nymphe, tandis que 26 ont présenté en moyenne plus d'1 nymphe par tranche.

► Analyse de l'abondance

La date, l'heure de l'échantillonnage, les coordonnées géographiques ou encore le nombre de bovins sur les pâtures n'ont pas eu

d'effet sur le nombre de nymphes *I. ricinus* par tranche.

Au final, 5 variables relatives aux caractéristiques des pâtures, et 3 variables relatives aux caractéristiques des tranches ont été conservées dans le modèle (Tableau 1). L'effet le plus important concernait l'association de la moyenne de l'hygrométrie minimum sur les 10 jours précédant la collecte et le pourcentage du périmètre de la pâture avec une strate arborescente : plus les valeurs de ces 2 variables étaient fortes, plus la probabilité de capturer des nymphes était élevée. Ainsi, si la moyenne de l'hygrométrie minimum sur les 10 jours précédant la collecte était supérieure à 57,9% et si le pourcentage du périmètre de la pâture avec une strate arborescente dépassait 73%, la moyenne du nombre de nymphes attendu était multipliée par 20,4. Le deuxième effet le plus important était celui de la présence de pommiers dans la pâture (multiplication de la moyenne du nombre de nymphes attendu par 5,1). Les autres facteurs significatifs étaient la présence de buissons ou d'arbres au-delà de la clôture (x 4,7 et x 4,1), une forte abondance de nymphes dans le bois le plus proche (x 3,9), la présence d'arbres ou de buissons au bord de la tranche (x 2,3 et x 2,1), la présence de cerisiers (x 1,5) et enfin, la présence d'un bois à moins de 20 m de la tranche (x 1,4) [3].

Discussion et mesures préventives

Les résultats confirment que l'humidité est un facteur primordial à la survie des tiques *I. ricinus*. En effet, les plus fortes concentrations de nymphes sont rencontrées lorsque la moyenne de l'hygrométrie sur 10 jours avant la collecte est supérieure à 57,9%, c'est-à-dire lorsque les tiques ont un minimum d'effort à fournir pour rester hydratées. De plus, les zones où ont été observées ces concentrations correspondent à des endroits abrités par la végétation : pâtures entourées de haies d'arbres, tranches longeant une végétation arborescente ou broussailleuse.

Mais si la végétation a un effet protecteur contre le dessèchement, elle a aussi vocation à fournir abri et nourriture aux animaux hôtes. Les petits mammifères, tels que les mulots et les campagnols, parcourent les haies qui sont leurs habitats naturels, les chevreuils s'y abritent des regards et y trouvent une nourriture de qualité avec les arbres fruitiers. Les cerisiers sont également appréciés des renards.

Ces animaux hôtes sauvages proviennent de milieux boisés favorables aux tiques. Ils sont donc susceptibles d'en apporter sur les

pâtures et de faire le lien entre nombre de nymphes dans le bois le plus proche de la pâture et nombre de nymphes sur la pâture. Cependant, il n'est pas nécessaire que le bois soit une source de tiques pour la pâture, car certaines conditions (végétation fournie, humidité suffisante et fréquentation par des animaux hôtes) peuvent faire que la population de tiques soit maintenue sur la pâture sans apport extérieur.

A partir de ces résultats, nous pouvons

TABLEAU 1. Résultats de l'ajustement de la loi binomiale négative aux données d'abondance des nymphes *Ixodes ricinus* dans les prairies permanentes pâturées de la région des Combrailles, Puy-de-Dôme

Variable	Paramètre		
<i>Caractéristiques du bord immédiat de la tranche</i>			
Barrière-mur	1		
Buissons	2,1	***	
Arbres	2,3	***	
<i>Caractéristiques de ce qu'il y a de l'autre côté de la clôture jusqu'à 20 m</i>			
Route-chemin-bâtiment-eau	1		
Culture	2,2	*	
Pâture	1,7	**	
Buissons	4,7	***	
Arbres	4,1	***	
<i>Présence d'un bois à moins de 20 m</i>			
> 20 m	1		
< 20 m	1,4	*	
<i>Nombre de nymphes dans le bois le plus proche (nb/m²)</i>			
0 à 0,08	1		
0,09 à 0,25	1,9	**	
0,26 à 1,48	3,9	***	
<i>Présence de cerisiers sur le périmètre de la pâture</i>			
Absence	1		
Présence	1,5	**	
<i>Présence de pommiers sur le périmètre de la pâture</i>			
Absence	1		
Présence	5,1	***	
<i>Interaction</i>			
HYG (%)	TREE (%)	1	
50-57,9	43-72	5,6	***
50-57,9	73-100	3,1	*
57,9-65	43-72	9,4	***
57,9-65	73-100	20,4	***

D'APRÈS LES RÉSULTATS DE C. BOYARD ET AL. PARUS DANS PARASITOLOGY [3]. LES SYMBOLES *, ** ET *** INDIQUENT QUE LES FACTEURS SONT SIGNIFICATIFS AU SEUIL DE 5%, 1% ET 1%, RESPECTIVEMENT. LES RÉSULTATS POUR L'ASSOCIATION ENTRE LA MOYENNE DE L'HYGROMÉTRIE MINIMUM SUR 10 JOURS AVANT LA COLLECTE (HYG) ET LE POURCENTAGE DU PÉRIMÈTRE DE LA PÂTURE AVEC UNE STRATE ARBORESCENTE (TREE) SONT NOTÉS « INTERACTION ».

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - AESCHLIMANN A. *The role of hosts and environment in the natural dissemination of ticks. Studies on a Swiss population of Ixodes ricinus L., 1758. Review of advances in parasitology.* 1981;859-869
- 2 - ARZOUNI J-P. *Une enquête séro-épidémiologique dans le Puy-de-Dôme, à propos de trois maladies transmissibles par les tiques: la maladie de Lyme, la fièvre boutonneuse méditerranéenne, la fièvre Q. Doctorat en médecine. Université Clermont-Ferrand I.* 1990.
- 3 - BOYARD C, BARNOUIN J, GASQUI P, VOURCH G. *Local environmental factors characterizing Ixodes ricinus nymph abundance in grazed permanent pastures for cattle. Parasitology.* 2007, sous presse.
- 4 - ESTRADA-PENA A, MARTINEZ JM, SANCHEZ ACEDO C, QUILEZ J, DEL CACHO E. *Phenology of the tick, Ixodes ricinus, in its southern distribution range (central Spain). Med. Vet. Entomol.* 2004;18:387-397.
- 5 - GILOT B, BONNEFILLE M, DEGEILH B, BEAUCOURNU J-C, PICHOT J, GUIGUEN C. *La colonisation des massifs forestiers par Ixodes ricinus (Linné, 1758) en France: Utilisation du chevreuil, Capreolus capreolus (L. 1758) comme marqueur biologique. Parasite.* 1994;1:81-86.
- 6 - GRAY JS. *Review: The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. Exp. Appl. Acarol.* 1998;22:249-258.
- 7 - GUIGUEN C, DEGEILH B. *Les tiques d'intérêt médical: Rôle vecteur et diagnose de laboratoire. Revue Française des Laboratoires.* 2001;338:49-57.
- 8 - HUMAIR PF, RAIS O, GERN L. *Transmission of Borrelia afzelii from Apodemus mice and Clethrionomys voles to Ixodes ricinus ticks: differential transmission pattern and overwintering maintenance. Parasitology.* 1999;118(1):33-42.
- 9 - LHOSTIS M, CHAUVIN A, VALENTIN A, MARCHAND A, GORENFLOT A. *Large scale survey of bovine babesiosis due to Babesia divergens in France. Vet. Record.* 1995;14:36-38.
- 10 - LHOSTIS M, DUMON H, DORCHIES B, BOISDRON F, GORENFLOT A. *Seasonal incidence and ecology of the tick Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae) on grazing pastures in Western France. Exp. Appl. Acarol.* 1995;19:211-220.
- 11 - LHOSTIS M, SEEGER H. *Tick-borne parasitic diseases in Cattle: Current knowledge and prospective risk analysis related to the ongoing evolution in French cattle farming systems. Vet. Res.* 2002;33:599-611.
- 12 - MELJON HA, JAENSON TGT. *Questing behaviour of Ixodes ricinus ticks (Acari: Ixodidae). Exp. Appl. Acarol.* 1997;21:747-754.
- 13 - PICHON B, MOUSSON L, FIGUREAU C, RODHAIN F, PÉREZ-EID C. *Density of deer in relation to the prevalence of Borrelia burgdorferi s.l. in Ixodes ricinus nymphs in Rambouillet forest, France. Exp. Appl. Acarol.* 1999;23:267-275.
- 14 - RANDOLPH SE, GREEN RM, HOODLESS AN, PEACEY MF. *An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick Ixodes ricinus. Int. J. Parasitol.* 2002;32(8):979-989.
- 15 - SCHMIDTMANN ET, SCHLATER JL, MAUPIN GO, MERTINS JW. *Vegetational associations of host-seeking adult blacklegged ticks, Ixodes scapularis Say (Acari: Ixodidae), on dairy farms in northwestern Wisconsin. J. Dairy Sci.* 1998;81(3):718-721.
- 16 - TÄLLEKLINT-EISEN L, LANE RS. *Spatial and temporal variation in the density of Ixodes pacificus (Acari: Ixodidae) nymphs. Entomological Society of America.* 2000;29(2):272-280.
- 17 - VASSALLO M, PICHON B, CABARET J, FIGUREAU C, PÉREZ-EID C. *Methodology for sampling questing nymphs of Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae), the principal vector of Lyme disease in Europe. Entomological Society of America.* 2000;37(3):335-339.
- 18 - WORLD HEALTH ORGANIZATION. *The vector-borne human infections of Europe. Their distribution and burden on public health. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.* 2004.

tenter de formuler quelques recommandations qui pourraient limiter, dans une certaine mesure, l'abondance de tiques sur les pâtures. Cependant, il faut garder à l'esprit que le modèle employé n'établit que des corrélations, et non des relations de cause à effet, entre les facteurs environnementaux et l'abondance de nymphes.

Dans un premier temps, il peut être informatif d'évaluer l'abondance de tiques sur une pâture. La méthode du drapeau, facile et efficace, peut être utilisée. Le respect d'une longueur de tranche de 10 m est conseillé. Il n'est pas nécessaire d'échantillonner le centre de la pâture ; il faut privilégier le bord des haies et des broussailles. L'échantillonnage doit être réalisé au printemps pour être efficace, mais il peut être répété pendant toute la période d'activité des tiques.

Lorsqu'on a identifié les pâtures à haut risque, on peut, dans un deuxième temps, envisager quelques mesures qui devraient permettre de réduire ce risque :

- éviter de faire pâturer les bovins sur les pâtures à risque pendant les périodes de fortes hygrométries. On peut réserver ces pâtures pour des temps plus secs ;
- éviter d'attirer les animaux sauvages avec des arbres fruitiers ;
- éviter que les bovins aillent au contact des haies ;
- entretenir les bordures pour limiter l'apparition des broussailles ;
- ne pas laisser la végétation de sous-bois gagner du terrain sur la pâture.

Conclusion

Lorsque les conditions s'y prêtent, l'abondance de tiques *Ixodes ricinus* dans les pâtures peut atteindre le niveau habituellement observé dans les bois, habitats naturels de cette espèce. Un modèle statistique a permis de définir quelles sont ces conditions favorables aux populations de tiques sur le bord des pâtures. Ainsi, les tiques sont rencontrées surtout dans les endroits humides, protégés par une couverture végétale, où le passage d'animaux hôtes est fréquent. Trois méthodes peuvent être retenues pour lutter contre les maladies transmises par les tiques :

- 1) limiter le développement des tiques, en ne favorisant pas l'apparition d'une végétation de sous-bois dans les pâtures ;
- 2) limiter leur importation, en évitant d'attirer les animaux hôtes sauvages avec des arbres fruitiers ;
- 3) limiter leur rencontre avec les bovins et l'Homme, en évitant le pâturage sur les pâtures à risque pendant les périodes de forte hygrométrie.

II.3.2 Etude de la reproductibilité de l'effet des facteurs d'abondance des nymphes *I. ricinus* dans le temps et dans l'espace : publication n°3

(Publication en préparation)

Résumé de la publication n°3 :

En utilisant un modèle de type binomial négatif dans leur étude de mise en évidence de facteurs environnementaux de l'abondance des nymphes d'*I. ricinus* en France sur les prairies pâturées par les bovins, Boyard *et al.* (2007a) ont montré qu'un haut niveau d'abondance était lié aux facteurs suivants : période d'humidité avant la collecte, environnement boisé autour de la pâture, forte densité de nymphes dans les bois alentours, et enfin présence d'arbres fruitiers en périmètre de pâture susceptibles d'attirer des animaux hôtes. Ces facteurs étaient bien adaptés aux observations réalisées en 2003 sur 61 pâtures de la région des Combrailles (Puy-de-Dôme). Mais, la question de la représentativité de résultats se pose. Autrement dit, ces facteurs sont-ils toujours aussi pertinents lorsque les observations diffèrent dans le temps et dans l'espace, ainsi qu'au niveau du nombre de pâtures étudiées ?

Pour tenter de répondre à cette question, le modèle binomial négatif appliqué aux données « Combrailles 2003 » a été réajusté aux données « Combrailles 2004 » sur un même nombre de pâtures, puis aux données collectées en 2006 – sur 30 pâtures par zone – ceci à la fois dans les Combrailles et dans l'Ouest Cantal. Finalement, les facteurs concernant le milieu boisé et l'influence de la densité de nymphes d'*I. ricinus* dans le bois le plus proche sont restés identiques au travers de l'ensemble des jeux de données. Par contre, la constance de l'effet de l'hygrométrie est apparue plus nuancée, et il en a été de même pour la présence d'arbres fruitiers autour des pâtures. Sur ce point, l'inconstance de leur effet sur l'abondance des tiques peut être liée aux variations interannuelles de la production et des périodes de pic de production des fruits. Ces données, dont nous ne disposons pas, sont en effet susceptibles d'influencer significativement l'attraction des hôtes intéressés par leur consommation. Par ailleurs, dès que le nombre de pâtures étudiées a décru, des variables peu représentées, comme c'est le cas de la présence d'arbres fruitiers en bord de pâture, ont vu leur capacité à être statistiquement significatives dans les modèles s'amenuiser fortement. Au final, les variables liées au rôle de « source » des bois vis-à-vis de la colonisation des autres milieux par les nymphes *I. ricinus* via des hôtes transporteurs, apparaissent comme les plus structurellement associées à l'abondance des nymphes sur les prairies permanentes pâturées par les bovins.

Exploring the reproducibility of factors influencing *Ixodes ricinus* nymph abundance on grazing pastures in France

Chloé Boyard · Séverine Bord · Patrick Gasqui · Jacques Barnouin · Gwenaél Vourc'h

Running title: *I. ricinus* nymph abundance on pastures

Chloé Boyard · Séverine Bord · Patrick Gasqui · Jacques Barnouin · Gwenaél Vourc'h
(✉)

INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), UR346 Epidémiologie Animale, F-63122 Saint Genès Champanelle, France. Phone: +33 (0) 4 73 62 47 26. Fax: +33 (0) 4 73 62 45 48. E-mail: [gvouch@clermont.inra.fr](mailto:gvoucher@clermont.inra.fr)

Abstract In a 2003 study, Boyard et al. (2007) investigated environmental factors characterizing *Ixodes ricinus* nymph abundance on 61 grazed permanent pastures located in central France (the Combrailles). Using a negative binomial model, they highlighted that high *Ixodes ricinus* nymph abundance on pasture perimeters were characterized by a previous humid 10 days period, a high *I. ricinus* nymph density in the nearest woodland, a woody vegetation, and the presence of fruit trees at the pasture perimeter. These findings can lead to disease preventive measures as variation of nymph abundance is one component of the acarological risk. In this context, it is crucial to know the significance of these findings for observations differing in time, space or numbers of studied pastures. To address this question, the 2003 binomial negative model was re-adjusted to data obtained (i) on the same pastures in 2004, (ii) on a random subset of 30 pastures in 2006 and (iii) on 30 pastures located in another region of central France, namely the western Cantal. Previously highlighted factors regarding woody vegetation and the influence of the *I. ricinus* nymph density in the nearest woodland remained significant and their effects were consistent across all datasets. Conversely, the effect of the humidity factor showed some inconsistency. The effect of the presence of fruit trees was poorly reproducible. Consequently, the main characteristics influencing *I. ricinus* nymph abundance, consistent across studies varying in time and space was related to woody vegetation and the presence of woodland.

Key words *Ixodes ricinus*, questing nymph, abundance, pasture, negative binomial model

Introduction

In eco-epidemiological studies, many explanatory variables used in associative models are linked to the environment and thus are likely to vary over time and space (Barbault, 1995). One of the challenges facing the users of such models is to assess whether the results found in one study can be extrapolated to other situations or are derived from the specific study configuration (Guisan and Thuiller, 2005). One way to address this issue is to conduct a study over the whole period or area of interest. For example, to map *Ixodes ricinus* tick habitat suitability in Europe, Estrada-Peña (1999) based his analysis on tick presence recorded all over Europe. Another way is to divide the original dataset in two parts: one part to construct the model, the other to test the robustness. Finally, studies can be repeated within the range of application to assess the consistency of the results. Such approach is rarely used because it is time consuming and can invalidate previous conclusions.

The *I. ricinus* tick is the vector of several bacterial (e.g. *Borrelia burgdorferi* s.l. – Lyme disease, *Anaplasma phagocytophilum* – Granulocytic Anaplasmosis), protozoan (e.g. *Babesia divergens*) and virus (e.g. tick-borne encephalitis virus) tick-borne diseases. The risk for a host to contract tick-borne diseases depends on the risk of a bite from an infected tick, which can be broken down into two components: the number of host-seeking ticks in the environment, in particular nymphs, and the prevalence of tick-borne pathogens in ticks. Thus, identifying factors influencing questing nymph abundance can provide insight for actions aimed at preventing disease transmission. In this context, it is crucial to know the significance of results found in a specific study for observations differing in time and/or space. *I. ricinus* abundance has been shown to vary between sites and over time at a local scale (between places on pastures and between years: L'Hostis et al., 1995; Perret et al., 2000; Vassallo et al., 2000; between places in woodland and between years: Jouda et al., 2004). Moreover, effects of the environmental factors could vary from one study to another.

In a 2003 study on *I. ricinus* nymphs found on 61 grazed permanent pastures located in central France (the Combrailles), Boyard et al. (2007) showed that several factors favoured questing nymph abundance. Using a negative binomial model highlighted features were that an abundant tree layer at the perimeter of the pasture associated with a high humidity before sampling greatly enhanced the number of sampled *I. ricinus* nymphs and that the presence of apple or cherry trees around the pasture perimeter, the presence of trees or bushes at the pasture edge, woodland around the pasture and a high number of *I. ricinus* nymphs in the nearest woodland to the pasture were also favourable to nymph abundance in the pasture.

These factors are readily related to *I. ricinus* biology cycle: high humidity and woody vegetation prevent ticks from desiccation, woody vegetation shelter hosts that can be attracted by fruit trees. The effect of the *I. ricinus* nymph abundance in the nearest wood to the pasture may be related to tick transportation from woodland to pastures via hosts. However, mechanisms are not inferred by negative binomial. The correlation highlighted may be fortuitous and specific to the observed situation.

To test the consistency of the factor effects in time and space, we repeated the tick sampling in spring 2004 on the same pastures and in spring 2006 on a subset of the same pastures and on pastures from another region located in central France, namely in west Cantal.

Materials and methods

Datasets

The number of *I. ricinus* nymphs drag-sampled by a 1 m² cloth at pasture perimeters was studied per 10 m² unite surface called subtransects (STs). Each ST was separated from each other by 20 m to ensure statistical independence. The initial sampling took place from the 23rd of April to the 11th of June in 2003 on 61 grazed permanent pastures located in the Combrailles region that included the Puy-de-Dôme districts of Montaigut, Menat, Pionsat, Saint-Gervais d'Auvergne, Manzat, Pontaumur, and Pontgibaud (latitude: 45.8°-46.2°N; longitude: 2.5°-3.1°E; altitude: 451-816 m). Subsequent studies were located on the same pastures from the 26th of April to the 8th of June in 2004, on a subset of 30 pastures among the 61 previously sampled in addition to 30 pastures located in the neighbouring region of western Cantal from the 17th of May to the 16th of June 2006. Similarly to the Combrailles, this region is known to be endemic for Lyme disease (Dabertrand, 2003). Cantal pastures were randomly selected among cattle farms with over 30 animals listed in the exhaustive farm database provided by the "Etablissement Départemental de l'Élevage". They belonged to the districts of Saignes, Mauriac, Salers, Pleaux, Saint-Cernin, Laroquebrou, and Jussac. As for the 2003 study, interviews with the farmers were conducted at each selected farm to choose a permanent pasture in which at least 5 heifers grazed for at least 3 months in the two previous years. The resulting region in west Cantal ranged from 44.9° to 45.3°N and from 2.1° to 2.5°E, with altitude ranging from 419 to 830 m.

As a result, four datasets were considered:

- The COMB3, the reference dataset corresponding to the data collected in 2003 on the 61 pastures, representing 1089 STs (Boyard et al., 2007).
- The COMB4 dataset, to evaluate the reproducibility of tick abundance factors between 2003 and 2004, corresponding to the data collected in 2004 on the same 61 pastures, representing 1050 STs.
- The COMB6 dataset, to evaluate the reproducibility of tick abundance factors between 2003 and 2006, corresponding to the data collected in 2006 on a random subset of 30 pastures, representing 593 STs.
- The CANT6 dataset, to evaluate the between regions and between years reproducibility of tick abundance factor, corresponding to 30 additional pastures (757 STs) of the west Cantal region.

Covariables collection did not differ from 2003 and were recorded on the field or obtained from 'Météo France' stations of Saint-Gervais d'Auvergne for the Combrailles region and of Mauriac for the Cantal region. Details of the protocols can be found in Boyard et al (2007).

Statistical analysis

The data were stored in an Access 2000 (Microsoft France, Courtaboeuf, France) relational database. Checking procedures for data validity were conducted,

which entailed inspecting the record forms completed in the field and implementing automatic procedures to detect erroneous entries. For each dataset, binomial negative models were adjusted to the number of *I. ricinus* nymphs per ST using the `glm.nb` function of the statistical software 'R' (R Development Core Team, 2005). The explanatory variables were those that remained in the final model of the reference dataset. Quantitative explanatory variables were divided into 2 or 3 categories of equal size depending on variable distribution. It resulted in categorical data whose class ranges may differ (Table 1). Eight variables and one interaction were analyzed through the negative binomial models:

- Characteristics of ST border (enclosure-wall, bush, or tree);
- Characteristics of ST outside (i.e. what lies beyond the ST border up to 20 m: road-path-building-river, under cultivation, pasture, bush, or tree);
- Distance pasture-nearest woodland: ST-nearest wood distance was less than 20 m;
- Nymphs in the nearest woodland (number / m²);
- Cherry trees (*Prunus cerasus* or *P. avium*) on the pasture perimeter;
- Apple and crab apple trees (*Malus* spp.) on the pasture perimeter;
- Daily minimum humidity over 10 days before sampling (%) (HYG);
- Pasture perimeter with tree layer (%) (TREE);
- Interaction between HYG and TREE.

The candidate variables were offered to the negative binomial model with the best fit using backward elimination at $P < 0.05$. As the algorithm failed to converge when the candidate were too correlated, the variables that were correlated at the 1% threshold were removed from the statistical process. Finally, the remaining significant factors for the number of nymphs per ST were displayed and the adjustment of the fitted distribution was assessed using a chi-square test.

Results

The mean number of nymph number per ST ranged from 1.7 in CANT6 to 3.7 in COMB4. The corresponding standard deviations were 2.2 to 6.1 times the mean (Table 2). The percentage of infested STs per pasture similarly varied from 35% to 39%. It is worth noticing that in COMB4 one ST of a particularly infested pasture harboured over 400 nymphs.

Meteorological conditions were similar between years in the Combrailles, while the Cantal region was warmer and dryer than the Combrailles (Table 3).

Adjustment algorithms converged for the COMB4 and CANT6 datasets, but not for the COMB6 dataset. Thus, the correlation structure between covariables was analyzed and showed that the distance pasture-nearest woodland was correlated to TREE: if TREE was low, woodland was likely found more than 20 m away from the pasture, and conversely, if TREE was high, woodland was prone to be located less than 20 m away from the pasture. To ensure the COMB6 model convergence, the distance

pasture-nearest woodland was removed from statistical process for this dataset. Finally, the 3 models fit the data well (chi square P-values >0.1).

The significance of the explanatory variables and their effect in the 4 studied models are displayed table 4. The resulting consistency between the factor effects in comparison to the reference COMB3 dataset are shown table 5. The most reproducible effects, consistent throughout all datasets, were found with two variables: the nymph number in the nearest woodland and the ST outside characteristic. Indeed, the higher the nymph abundance in the nearest woodland was, the higher the nymph abundance on the pasture perimeter was. In addition, the presence of trees at the ST direct vicinity (characteristics of ST outside) enhanced nymph abundance.

The ST border effect found in COMB3 was reproducible in COMB4 and CANT6 for the tree and bush presence, but in COMB4. The distance pasture-nearest wood was not found significant in COMB4 and CANT6, the two comparative datasets where it was tested. The enhancing effect of cherry tree presence on pasture perimeter was found again only in COMB4. The variable was not significant in COMB6 and surprisingly displayed an opposite effect in CANT6. The effect of apple tree presence lacked of significance in all 3 compared datasets.

The most complex effect to report was the HYGxTREE interaction because it displayed different effects according to the different models. In the COMB4 and CANT6 models, the HYGxTREE interaction was significant, but with contradictory effects on nymph abundance compared to the COMB3 reference model. In COMB6, since the interaction was not significant, both variables were analysed as simple variables, but their effect has to be compared to the effect of each variable in the interaction of the COMB3 model (i.e. the effects of HYG and TREE as simple variables in the COMB3 model are irrelevant). TREE displayed a positive effect, similar to the one seen in the interaction in COMB3, whereas HYG displayed an opposite negative effect. To try to understand this discrepancy, we looked at HYG correlation with other explanatory variables in COMB6 and found that it was significantly ($P < 0.05$) correlated with the number of nymphs in the nearest woodland. When this variable was removed from the analysis, a high level of HYG became again favourable to the number of nymphs on the pasture perimeter. To sum up, the HYGxTREE interaction could not be considered reproducible in COMB4 and CANT6, whereas HYG and TREE variables had similar simple effects than the ones observed in COMB3 through the interaction.

Discussion

The most reproducible positive effect influencing nymph abundance on pasture perimeters was nymph numbers in the nearest woodland. Such result could be explained by the existence of 1) environmental conditions inducing high capture rates of *I. ricinus* nymphs in both woodlands and pastures; or 2) movement of *I. ricinus* larvae of year n-1 between woodland and pasture. As in European open habitats, micro-climatic conditions are usually not favourable to *I. ricinus* tick development (Daniel et al., 1977), the transportation of nymphs from woodlands to pastures by a vertebrate host can be hypothesized as an important factor explaining the presence of questing ticks on the pasture perimeter. Both propositions are not exclusive.

According to the present study, the vegetation at and beyond the ST border up to 20 m (ST border and outside characteristics), which were globally reproducible

throughout the datasets, also plays a key role in the number of collected nymph at the pasture perimeter. The woodier or shrubbier the pasture hedge was, the more *I. ricinus* nymphs were found. The presence of trees or shrub at the ST direct vicinity indicates that shelter against desiccation is available to ticks as well as small mammal and bird hosts since they are common residents of such vegetation. It also usually implies that woodland lies not far away. These results confirm the status of *I. ricinus* species in France as a woodland-associated species. Consequently, the main features that distinguish one pasture from another from the point of view of *I. ricinus* nymph abundance was the availability of woody vegetation and the tick potential in the nearest woodland.

The fruit tree effects were reproducible for the cherry trees in COMB4 only. The low number of pastures with fruit trees is certainly a major reason for this observation. Indeed, only seven and five pastures were found with cherry trees in Combrailles and Cantal, respectively, and two and one with apple trees. Besides, more detailed information on fruit availability would be helpful to characterize more host attraction to the trees more precisely. Fruits production is known to be quite irregular and varied between years, in addition to the fact that fruits may be harvest by farmers. In 2006, fruit tree presence was recorded at the ST level (instead of the pasture level). The analysis of both 2006 datasets using this information might give interesting insight.

The HYGxTREE interaction showed different effects according to the different models. Based on the COMB3 model, all the HYGxTREE interaction modalities were expected to have a positive effect on *I. ricinus* nymph number, or at the very least to be not significant, as occurred in the COMB6 model. Yet, negative effects of the interaction were displayed in COMB4 and CANT6 models. In COMB4 such result could be related to a disproportionate high statistical weight of a specific pasture. Throughout the 3 years, this pasture consistently harboured the highest number of *I. ricinus* nymphs among all the sampled pasture. In 2004, this pasture was sampled during a dry periode and over 400 nymphs were even collected on a single ST. The discrepancy observed for CANT6 could be due to the lower number of sampled pastures (n=30) compared to the reference dataset, or to the fact that the sampling period was much drier than in the Combrailles. Actually, the higher level of HYG in CANT6 corresponded to lower level in COMB3. It is possible that the positive effect of humidity can only be seen over a given threshold. Regarding COMB6, the HYGxTREE interaction was removed from model due to lack of significance. As a simple variable, TREE was favourable to tick abundance, when the percentage was at the highest level. On the contrary, HYG effect appeared to be the opposite to what was expected. However, a correlation between HYG and the nymph number in the nearest woodland (that did not prevent the model from converging) could explain this observation. When this latter variable was removed from the model, HYG recovered its positive effect. The significant correlation between HYG and the nymph number in woodland seemed to be fortuitous as the highest nymph number in woodland was observed for a medium level of HYG.

As *I. ricinus* tick spends 98% of its life in the environment, the tick behaviour is expected to depend mainly on abiotic conditions. However, the effect of humidity rises some issues according to the way it is measured. Numerous authors have found positive effect of humidity alone or combined with temperature through the saturation deficit on tick survival and activity (Randolph et Storey, 1999; Perret et al., 2000; Perret et al., 2004). Those studies usually measure humidity at the site of sampling. Measures taken away from sampling sites and averaged over several days, as it is the case in our study,

have been argued to reflect the characteristics of the season rather than the limiting conditions of local tick activity (Gigon, 1985). Because 2004 was a wetter year than 2003, and 2006 was a dryer one, HYG may not be a tick abundance limiting factor in COMB4, as it could be in COMB3 and COMB6. In the Cantal, HYG was expected to be a limiting factor, but such a hypothesis was not demonstrated.

Our present study outlined factors, linked to woody vegetation and nearby woodland with high nymph population, consistent over time and space that increase questing nymph abundance in pastures and thus likely disease risk transmission for cattle and farmers working in the pastures. These results first confirm the hypothesis that movement of ticks between woodland and pastures might be needed to maintain tick population in pastures and second highlight the need to prevent cattle (or human) from using pastures zone that are closed to woody hedges and woodland.

Acknowledgments We are thankful to the field team: Ginette Sadot, Valérie Poux, Anne-Sophie Martel, and to the laboratory colleagues and trainees who endured field experiences with such good grace. Gratitude to Nelly Dorr for the database maintenance. Sincere thanks to the Etablissement Départemental de l'Élevage du Puy-de-Dôme, the Région Auvergne, and all the farmers for their collaborative spirit.

References

- Barbault R (1995) Ecologie générale. Structure et fonctionnement de la biosphère. 3^{ème} edn. Masson, Paris
- Boyard C, Barnouin J, Gasqui P and Vourc'h G (2007) Local environmental factors characterizing *Ixodes ricinus* nymph abundance in grazed permanent pastures for cattle. *Parasitology* 134:987-994
- Dabertrand C (2003) La maladie de Lyme, maladie émergente. Enquête épidémiologique dans le Cantal et la Haute Corrèze. Thèse de Doctorat en Médecine. Université de Clermont-Ferrand I.
- Daniel M, Cerny V, Dusbabek F, Honzakova E and Olejnicek J (1977) Influence of microclimate on the life cycle of the common tick *Ixodes ricinus* (L.) in an open area in comparison with forests habitats. *Folia Parasitol (Praha)* 24:149-160
- Estrada-Peña A (1999) Geostatistics as predictive tools to estimate *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) habitat suitability in the western Palearctic from AVHRR satellite imagery. *Exp Appl Acarol* 23:337-349
- Gigon F (1985) Biologie d'*Ixodes ricinus* L. sur le Plateau Suisse - Une contribution à l'écologie de ce vecteur. Faculté des Sciences de Neuchâtel.
- Guisan A and Thuiller W (2005) Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters* 8:993-1009
- Jouda F, Perret JL and Gern L (2004) *Ixodes ricinus* density, and distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection along an altitudinal gradient. *J Med Entomol* 41:162-169
- L'Hostis M, Dumon H, Dorchie B, Boisdrion F and Gorenflot A (1995) Seasonal incidence and ecology of the tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on grazing pastures in Western France. *Exp Appl Acarol* 19:211-220

- Perret J-L, Guigoz E, Rais O and Gern L (2000) Influence of saturation deficit and temperature on *Ixodes ricinus* tick quest activity in a Lyme borreliosis-endemic area (Switzerland). *Parasitol Res* 86:554-557
- Perret J-L, Rais O and Gern L (2004) Influence of climate in the proportion of *Ixodes ricinus* nymphs and adults questing in a tick population. *Entomological Society of America* 41:361-365
- R Development Core Team (2005). R: a language and environment for statistical computing, version 2.2.1. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Randolph SE and Storey K (1999) Impact of microclimate on immature tick-rodent host interactions (Acari: Ixodidae): implications for parasite transmission. *J Med Entomol* 36:741-748
- Vassallo M, Pichon B, Cabaret J, Figureau C and Pérez-Eid C (2000) Methodology for sampling questing nymphs of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), the principal vector of Lyme disease in Europe. *Entomological Society of America* 37:335-339

Table 1: Class ranges of quantitative variables included in negative binomial models for *Ixodes ricinus* nymph abundance in grazed permanent pastures of Combrailles and Cantal regions, France.

Year	2003	2004	2006	
Region	Combrailles	Combrailles	Combrailles	Cantal
Pasture perimeter with tree layer (%) (TREE)				
level 1	0 - 42	0 - 42	1 - 35	5 - 35
level 2	43 - 72	43 - 72	36 - 50	36 - 60
level 3	73 - 100	73 - 100	51 - 100	61 - 100
Daily minimum humidity over 10 days before sampling (%) (HYG)				
level 1	40 - 50	45.8 - 56.0	25.3 - 28.1	26.0 - 31.3
level 2	51 - 57.9	56.1 - 61.4	28.2 - 56.6	31.4 - 39.2
level 3	58 - 65	61.5 - 66.5	56.7 - 61.9	39.3 - 44.9
Nymphs in the nearest woodland (number / m ²)				
level 1	0 - 8	0 - 13	0 - 10	0 - 14
level 2	9 - 25	14 - 42	11 - 32	15 - 26
level 3	26 - 148	43 - 317	33 - 99	27 - 95

Table 2: Descriptive statistics regarding the number of studied pastures and the number of *Ixodes ricinus* sampled per 10m² subtransect (ST) in the Combrailles and the Cantal regions.

Year	2003	2004	2006	
Region	Combrailles	Combrailles	Combrailles	Cantal
# of pastures	61	61	30	30
# of STs	1089	1150	593	757
# of nymphs	2772	4267	1342	1321
% of infested STs (c.i. ^a)	37 (34-40)	39 (36-42)	39 (35-43)	35 (31-38)
Minimum-maximum # of nymphs per ST	0-143	0->400	0-86	0-52
Mean # of nymphs per ST (c.i. ^b)	2.55 (2.18-2.97)	3.71 (3.16-4.35)	2.26 (1.86-2.75)	1.75 (1.46-2.08)
Standard deviation of # of nymphs per ST	8.38	22.64	7.55	4.25

a: confidence interval at 95% computed on the basis of a binomial law; b: confidence interval at 95% computed on the basis of a negative binomial law

Table 3: Humidity and temperature mean and range for the *Ixodes ricinus* sampling periods in the Combrailles and Cantal regions, France.

Year	2003	2004	2006	
Region	Combrailles	Combrailles	Combrailles	Cantal
Mean humidity of the sampling day (%) (minimum-maximum)	71 (50-93)	72 (54-94)	74 (56-84)	52 (36-69)
Mean temperature of the sampling day (°C) (minimum-maximum)	15 (7-23)	12 (5-21)	12 (6-23)	19 (15-22)

Table 4: Linear predictors of the final negative binomial models for *Ixodes ricinus* nymph abundance in grazed permanent pastures of Combrailles and Cantal regions, France.

Year	2003	2004	2006	
Region	Combrailles	Combrailles	Combrailles	Cantal
Subtransect border characteristic				
Enclosure -wall	1	1	1	1
Bush	+ (***)	0	+ (***)	+ (**)
Tree	+ (***)	- (***)	+ (***)	+ (***)
Subtransect outside characteristic				
Road, path, building, river	1	1	1	1
Under cultivation	+ (*)	0	0	0
Pasture	+ (**)	+ (**)	0	- (***)
Bush	+ (***)	+ (***)	0	+ (**)
Tree	+ (***)	+ (***)	+ (***)	+ (*)
Distance pasture-nearest wood (m)				
> 20	1	/	//	/
< 20	+ (*)	/	//	/
Nymphs in the nearest wood (number / m ²)				
level 1	1	1	1	1
level 2	+ (***)	+ (***)	+ (***)	+ (***)
level 3	+ (***)	+ (***)	+ (***)	+ (***)
Cherry tree on pasture perimeter				
Absence	1	1	/	1
Presence	+ (**)	+ (***)	/	- (***)
Apple tree on pasture perimeter				
Absence	1	/	/	/
Presence	+ (***)	/	/	/
Daily minimum hygrometry on 10 days before sampling (%) (HYG)				
level 1			1	
level 2			- (**)	
level 3			0	
Pasture perimeter with tree layer (%) (TREE)				
level 1			1	
level 2			0	
level 3			+ (***)	
Interaction HYGxTREE				
	HYG (%)	TREE (%)		
level 2	level 2	level 2	+ (***)	+ (**)
level 3	level 2	level 2	+ (***)	+ (***)
level 2	level 3	level 3	+ (*)	- (*)
level 3	level 3	level 3	+ (***)	0

The estimations of the linear predictors are considered as asymptotically normally distributed. The symbols ‘.’, ‘*’, ‘**’ and ‘***’ indicate significant factors at respectively P-value <0.1, P-value <0.05, P-value <0.01 and P-value <0.001. ‘1’ and ‘0’ correspond respectively to reference modalities and non significant modalities. ‘/’ indicates the variables not included in the models because of their lack of statistical significance. ‘//’ indicates the variables removed from the analysis because of convergence and correlation issues (see text). Level ranges are displayed in table 1.

Table 5: Consistency of factor effects on *Ixodes ricinus* nymph abundance analysed by negative binomial regression, in comparison to the reference dataset of Combrailles 2003.

Reference study	2003 Combrailles		
	2004 Combrailles	2006 Combrailles	2006 Cantal
Comparative studies			
Subtransect border characteristic	0	+	+
Subtransect outside characteristic	+	+	+
Distance pasture-nearest wood (m)	0	0	0
Nymphs in the nearest wood (number / m ²)	+	+	+
Cherry tree on pasture perimeter	+	0	-
Apple tree on pasture perimeter	0	0	0
Pasture perimeter with tree layer (%) (TREE) ^a		+	
Daily minimum hygrometry on 10 days before sampling (%) (HYG) ^a		-, + ^b	
Interaction HYGxTREE	-	/	-

'+', '0', and '-' indicate respectively similar effects, non significant effects and opposite effects.

^a The effect of the variable in COMB6 is compared to the effect of the variable in the interaction HYG*TREE of COMB3

^b similar effect when the COMB6 model is analysed without the number of nymph in the nearest woodland

II.4 Comparaison bois-pâtures

II.4.1 Comparaison des densités

Pour chacune des trois années d'étude (2003, 2004 et 2006), nous avons comparé la densité d'*I. ricinus* de chaque stase et sexe (nymphes, adultes mâles et adultes femelles) sur les pâtures à la densité trouvée dans les bois correspondant par un test des rangs signés (Sprent, 1992). Les densités de nymphes *I. ricinus* observées pour chacune des années dans les bois et les pâtures sont représentées Figure 23.

Si les densités de tiques calculées étaient toujours moins élevées dans les pâtures que dans les bois les plus proches, la différence n'était pas toujours significative. En 2003, la différence de densité bois-pâture concernant les nymphes n'était pas significative. En revanche, la différence était significative pour les adultes. En 2004, toutes les différences sont apparues significatives. En 2006, la différence n'est significative que pour les nymphes.

Globalement, nos observations mettent donc en évidence, comme attendu via l'ensemble de la littérature, qu'il y a plus d'*I. ricinus* dans les bois que sur le périmètre des pâtures.

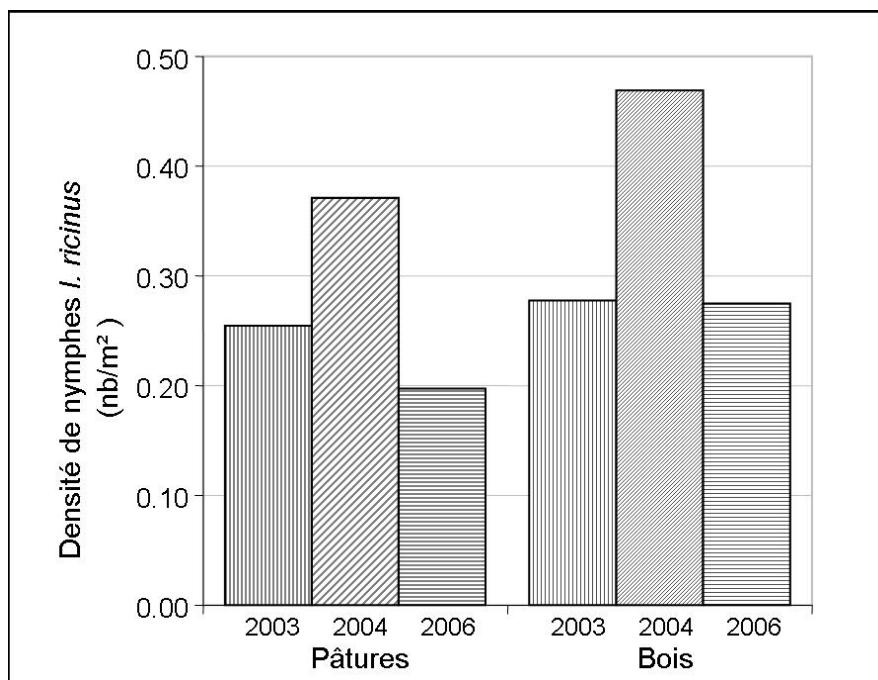


Figure 23 : Densités de nymphes *I. ricinus* sur le périmètre intérieur des pâtures et dans les bois aux printemps 2003, 2004 et 2006. (2003 et 2004 : Combrailles ; 2006: Combrailles + Ouest Cantal)

II.4.2 Comparaison des proportions des différentes stases (Figure 24)

Pour chacune des trois années d'étude (2003, 2004 et 2006), nous avons comparé les proportions de nymphes, d'adultes femelles et d'adultes mâles qui ont été collectées. Les comparaisons ont été conduites, à l'aide des tests du χ^2 , entre les bois et les pâtures d'une même année, et entre les années pour les bois et les pâtures séparément.

Sur les pâtures, les proportions des différentes stases ont été conservées d'une année à l'autre. Dans les bois, nous avons collecté proportionnellement moins d'adultes en 2006 qu'en 2003 et qu'en 2004. Par ailleurs, nous avons collecté en 2003 et 2004 proportionnellement plus d'adultes dans les bois que sur les pâtures. Enfin, en 2006, les proportions d'adultes et de nymphes collectées ont été identiques entre les bois et les pâtures.

Finalement, parmi les tiques collectées sur les pâtures, nous avons trouvé une moins grande proportion d'adultes que parmi les tiques collectées dans les bois. Notre observation ne va pas dans le sens des résultats de Milne (1950), qui a observé, dans les prairies britanniques infestées par *I. ricinus*, que dans les endroits les moins humides, il y avait une proportion plus grande d'adultes à l'affût que dans les endroits plus humides. Si l'on considère que les prairies auvergnates sont moins humides que les bois alentours, nos observations sont bien contradictoires avec celles de Milne (1950). Cependant, Milne a conduit ses études en milieu prairial, une entité relativement homogène vis-à-vis des hôtes (les moutons), tandis que nous comparons bois et pâtures, entités susceptibles de contenir des populations d'hôtes différentes. En fait, la structuration différente des communautés d'hôtes dans les bois et dans les pâtures pourrait aboutir à des ratios différents entre tiques adultes et nymphes à l'affût.

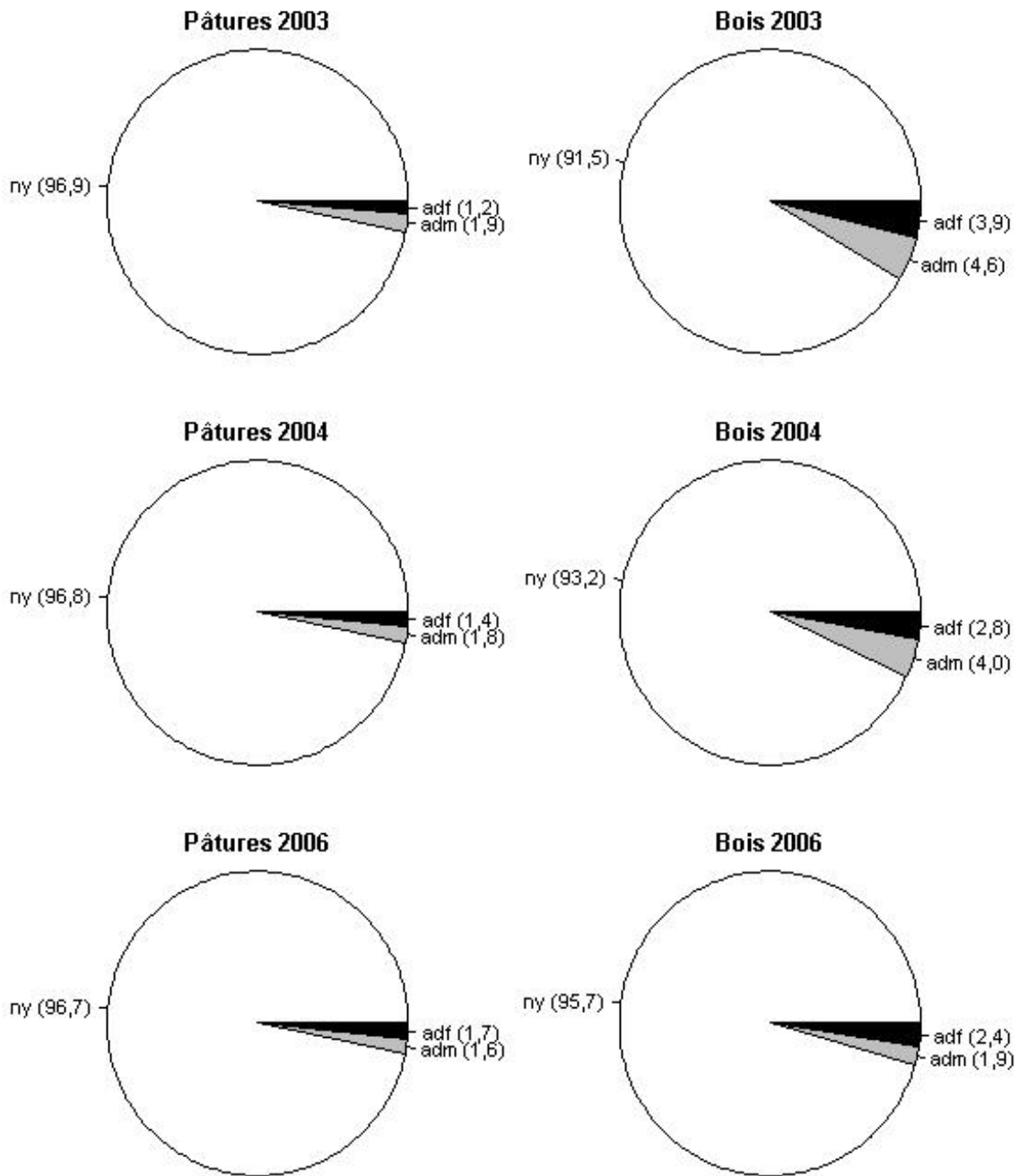


Figure 24 : Proportions de nymphes (ny), d'adultes mâles (adm) et d'adultes femelles (adf) *Ixodes ricinus* collectés sur le périmètre intérieur des pâtures et dans les bois en 2003, 2004 (Combrailles) et 2006 (Combrailles + Ouest Cantal). Pourcentages entre parenthèses.

III Etude de l'abondance des tiques *Ixodes ricinus* à l'écotone bois-pâture et rôle des animaux hôtes vertébrés

III.1 Activité saisonnière des tiques *Ixodes ricinus* dans les Combrailles

La variation saisonnière de l'activité d'*I. ricinus* sur les sites échantillonnés en 2005 est présentée Figure 25. Pour les larves, comme nous avons notifié uniquement leur présence sur les tranches de 10 m², la courbe représente la variation de l'étendue de leur activité au cours du temps sur les différents sites. Pour les nymphes et les adultes, les courbes représentent la variation de la moyenne par tranche.

Les Figure 26, Figure 27 et Figure 28 représentent de façon originale le détail de ces résultats. En ligne, nous visualisons le résultat de la collecte pour le mois correspondant. En colonne, nous visualisons la variation saisonnière de la présence de larves, du nombre de nymphes, du nombre et d'adultes *I. ricinus* sur une tranche. Les tranches sont regroupées par sites et par emplacement : en premier, nous avons les tranches du contour intérieur, puis les tranches du contour extérieur, viennent ensuite les tranches des pâtures et des bois adjacents et les tranches du centre de la pâture étudiée. Certaines tranches du site 43 étaient situées au milieu d'une culture fourragère de luzerne.

Les tendances saisonnières sont bien visibles en ce que concerne le site 27 (Le Quartier) sur lequel nous avons collecté le plus de tiques (Tableau 10). Sur ce site, l'activité des larves étaient la plus répandue en août (Figure 25A) ; l'activité des nymphes a présenté un pic printanier en juin, atteignant 10 nymphes / 10 m², et un pic automnal en octobre, atteignant 5 nymphes / 10 m² (Figure 25B). Le nombre d'adultes à l'affût (Figure 25C), quant à lui est beaucoup plus bas. Il a été maximum en juin avec 1,3 adultes / 10 m² environ. On peut remarquer un léger pic automnal de l'activité des adultes. Si on prend cet exemple du site 27, l'apparition des pics des trois stases est en adéquation avec la phénologie « type » proposée par Kurtenbach *et al.* (2006) pour l'Europe centrale (Figure 9).

Sur le site 43, nous avons constaté une activité larvaire d'avril à octobre, avec une étendue maximum en juillet. L'activité nymphale a atteint son maximum en juillet avec 4 nymphes / 10 m² pour redescendre ensuite en août septembre et octobre à une valeur avoisinant 1 nymphe / 10 m². L'activité des adultes a été maximum en mai avec 0,25 nymphes / 10 m² environ.

Les sites 25 et 53 présentent une activité d'*I. ricinus* similaire. Peu infestées (au maximum 1 nymphe / 10 m²), ces pâtures ont tout de même été le lieu d'une activité larvaire en été et d'une activité des nymphes et des adultes qui a débuté en mai pour se prolongée jusqu'en août.

Sur la Figure 26, on peut voir que la présence de larves est en grande majorité associée aux tranches de contour ou aux tranches situées dans le bois. En effet, sur 67 tranches sur lesquelles nous avons décelé une activité larvaire, seulement sept étaient situées en milieu ouvert.

La Figure 27 met en évidence l'infestation générale du site 27 dont le contour est particulièrement favorable aux nymphes. On remarque que, comme pour les larves, l'activité en milieu ouvert est limitée.

La Figure 28 montre que l'endroit qui abrite le plus d'adultes est le contour intérieur de la pâture 27, qui par ailleurs, est aussi un lieu d'activité larvaire marqué. Contrairement à la pâture 43, où aucun bovin ne pâturait, les bovins ont été très présents tout au long de l'année. Ils ont sans-doute servi de repas à diverse stases qui ont pu se développer à l'abri de la haie où de la lisière.

Sur chacune de ces trois figures, nous pouvons voir que le motif de l'activité sur les tranches se répète assez fidèlement d'un mois à l'autre, dans le sens où une tranche ayant abrité beaucoup de tiques à un moment reste le lieu d'une activité significative le reste du temps.

Tableau 10 : Résultats de la collecte des tiques *Ixodes ricinus* en 2005 sur quatre sites de la région des Combrailles.

Les tiques ont été collectées une fois par mois au drapeau d'avril à novembre sur des surfaces de 10 m² (tranches) dont la disposition était prédéfinie (cf. Figure 15B).

Site	25 (Bussières)	27 (Le Quartier)	43 (Marcillat)	53 (Dontreix)
Nb. de passages du drapeau	464	444	435	416
Nb. de passages du drapeau avec des larves	4	44	14	5
Nb. de nymphes	166	1729	588	165
Nb. d'adultes femelles	15	76	26	15
Nb. d'adultes mâles	8	91	16	13

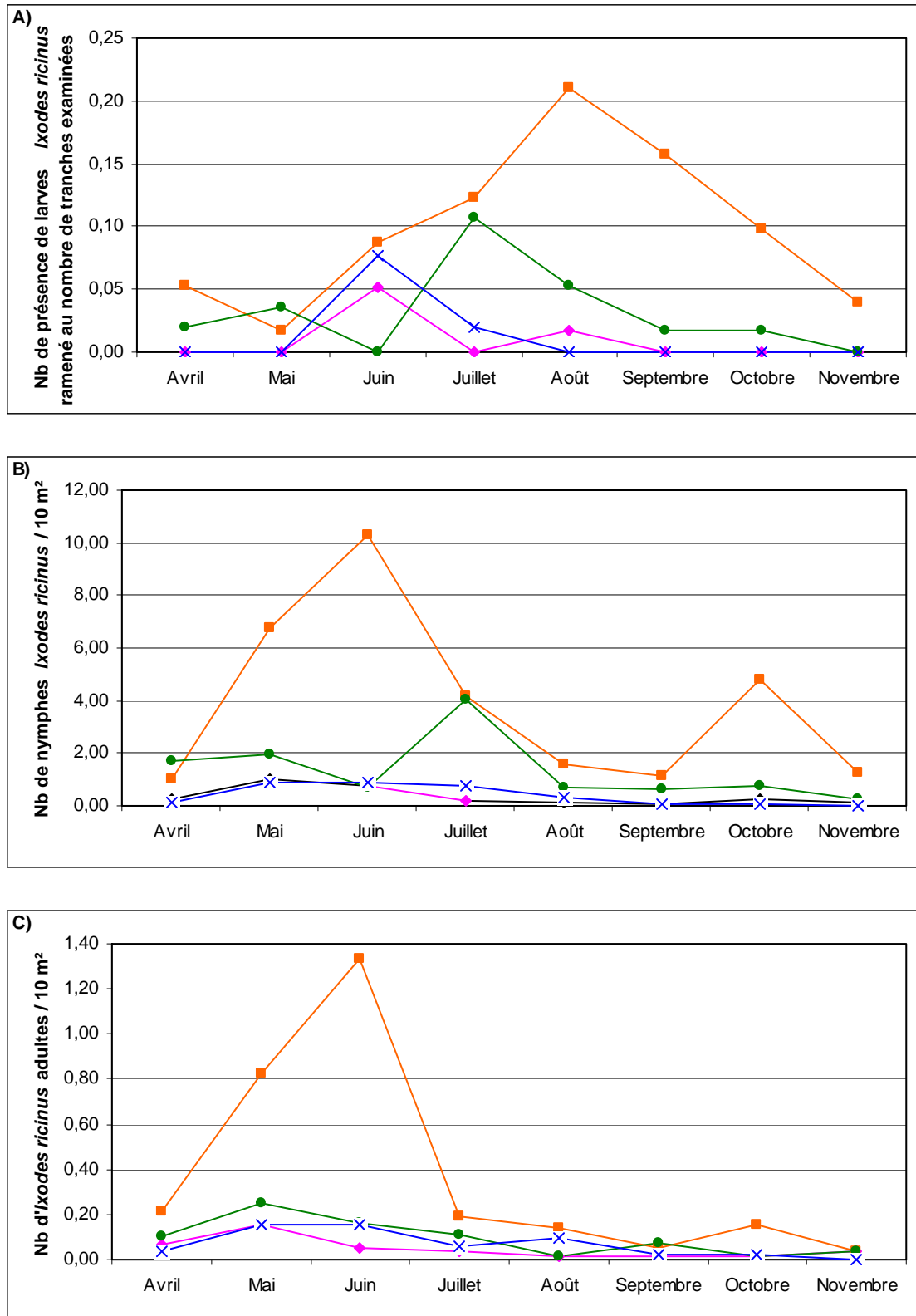


Figure 25 : Variation temporelle des densités ou de la prévalence d'*Ixodes ricinus* sur quatre sites (étude Combrailles 2005).

A) % du nombre de tranches comportant des larves, B) Densité des nymphes, C) Densité des adultes. ♦ : site 25 (Bussières), ■ : site 27 (Le Quartier), ● : site 43 (Marcillat), x : site 53 (Dontreix).

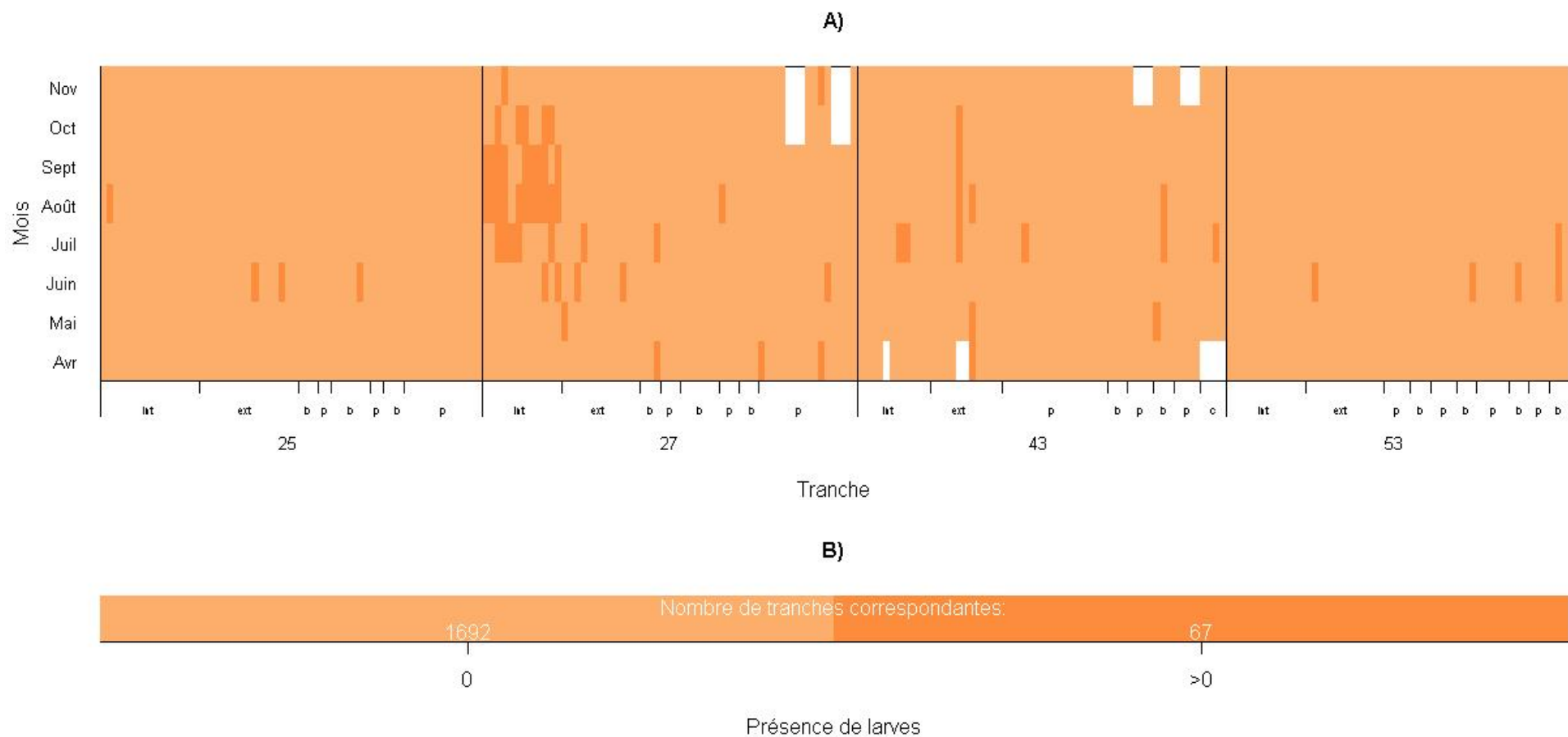


Figure 26 : Variation saisonnière de l'activité des larves *Ixodes ricinus* sur chaque tranche examinée d'avril à novembre 2005.

A) Les mois successifs sont représentés en lignes, et les tranches en colonnes. En abscisse, on peut lire le numéro du site sur lequel se trouve la tranche : 25, 27, 43 et 53, et son emplacement sur le site : int. : périmètre intérieur, ext. périmètre extérieur, p : milieu d'une pâture, b : milieu d'un bois, c : milieu d'une culture. Les couleurs correspondent au nombre de larves explicité en B).

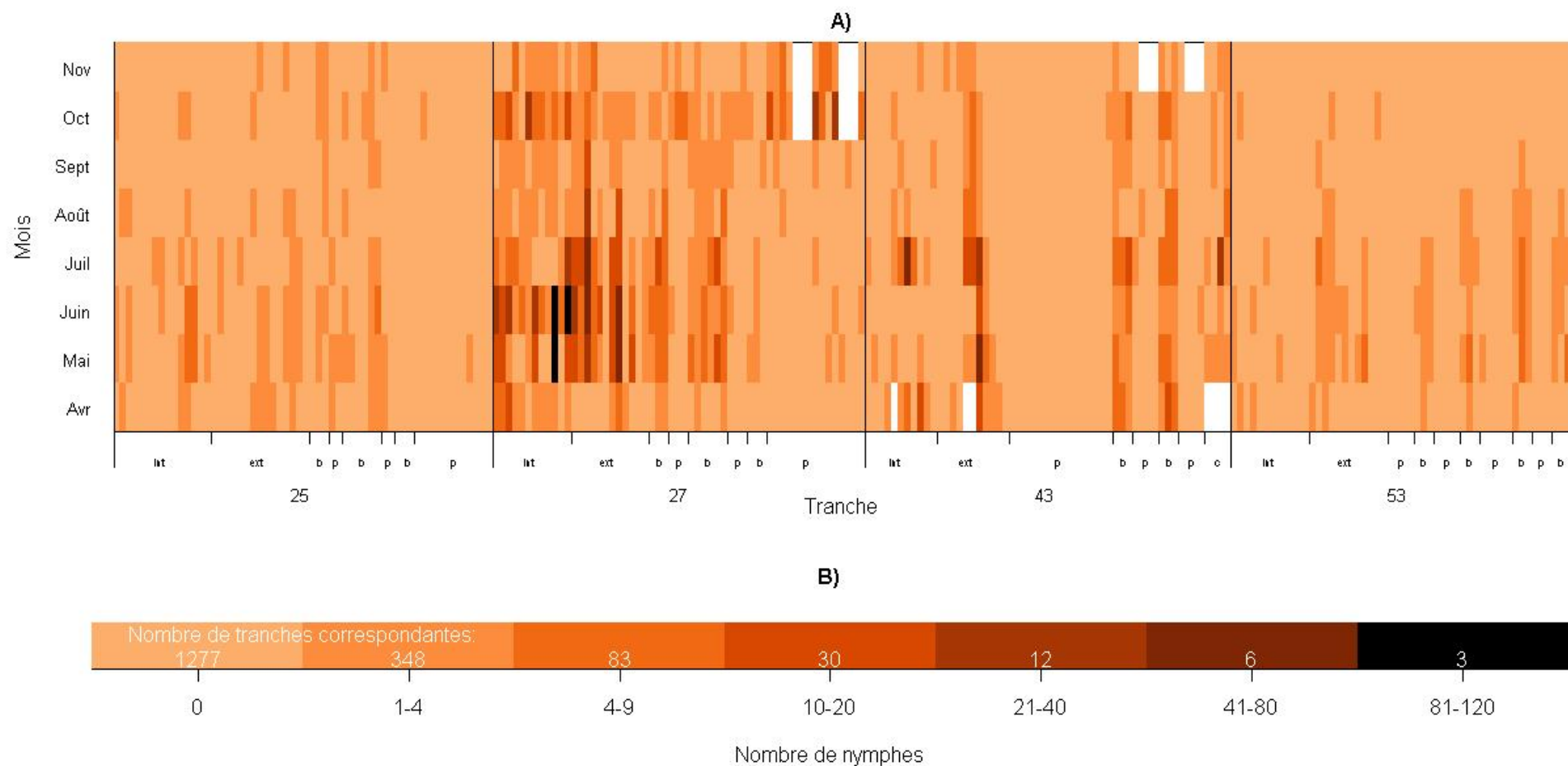


Figure 27 : Variation saisonnière de l'activité des nymphes *Ixodes ricinus* sur chaque tranche examinée d'avril à novembre 2005.

A) Les mois successifs sont représentés en lignes, et les tranches en colonnes. En abscisse, on peut lire le numéro du site sur lequel se trouve la tranche : 25, 27, 43 et 53, et son emplacement sur le site : int. : périmètre intérieur, ext. périmètre extérieur, p : milieu d'une pâture, b : milieu d'un bois, c : milieu d'une culture. Les couleurs correspondent au nombre de nymphes explicité en B).

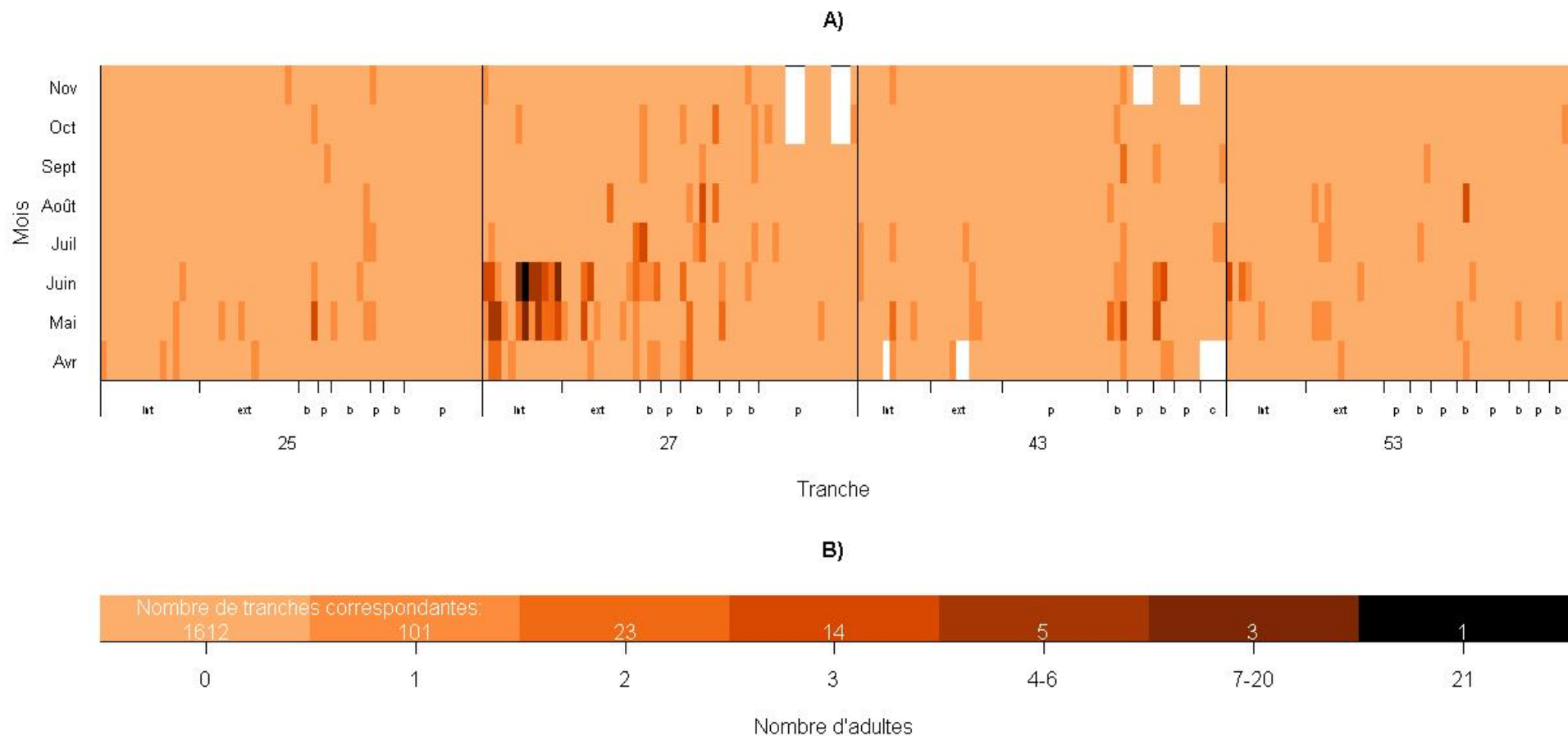


Figure 28 : Variation saisonnière de l'activité des adultes *Ixodes ricinus* sur chaque tranche examinée d'avril à novembre 2005.

A) Les mois successifs sont représentés en lignes, et les tranches en colonnes. En abscisse, on peut lire le numéro du site sur lequel se trouve la tranche : 25, 27, 43 et 53, et son emplacement sur le site : int. : périmètre intérieur, ext. périmètre extérieur, p : milieu d'une pâture, b : milieu d'un bois, c : milieu d'une culture. Les couleurs correspondent au nombre d'adultes explicité en B).

III.2 Etude des relations entre *Ixodes ricinus* et les micromammifères à l'interface bois-pâture : Publication n°4

Boyard, C., Vourc'h, G. et Barnouin, J. (sous presse) The relationships between *Ixodes ricinus* and small mammal species at the woodland-pasture interface, *Experimental and Applied Acarology*.

Résumé du manuscrit n°4 :

Vecteurs de nombreuses maladies humaines et animales, les tiques jouent un rôle épidémiologique majeur. *Ixodes ricinus*, tique la plus répandue en France, est présente à l'écotone entre le bois et la pâture, localisation facilitant la vectorisation d'agents pathogènes entre les animaux sauvages, les animaux domestiques et l'Homme. Les petits rongeurs - et les musaraignes - sont des occupants naturels des haies et des bocages, des hôtes des larves *I. ricinus* et des réservoirs de la borréliose de Lyme. A ces divers titres, ces espèces sont donc susceptibles de jouer le rôle de « pont épidémiologique » entre le bois et la pâture.

L'objectif de l'étude a été d'identifier les micromammifères aptes à jouer ce rôle de pont au sein d'une petite région bocagère modèle, les Combrailles. Nous avons procédé en 3 étapes : 1) étude de la localisation des tiques *I. ricinus* au sein du bocage ; 2) étude de la répartition des micromammifères dans ce paysage ; 3) étude du rôle relatif des différentes espèces de micromammifères dans le transport de tiques *I. ricinus* à l'interface bois-pâture. Nous avons donc collecté les tiques dans l'environnement par la technique du drapeau, et nous avons parallèlement capturé des micromammifères à l'interface bois-pâture.

Quatre prairies permanentes pâturées par les bovins, chacune bordée par un bois sur au moins un côté, ont été sélectionnées au sein de la zone des Combrailles. Deux de ces pâtures correspondaient à une forte abondance de nymphes *I. ricinus*, une troisième présentait une faible abondance, et une dernière une abondance intermédiaire. Les tiques et les micromammifères ont été échantillonnés sur des « tranches » de 10m² (10 m x 1 m) disposées le long de 6 transects (Figure 15B). Les tiques ont été collectées une fois par mois, d'avril à novembre 2005. Le résultat de la collecte a été sommé par tranche. Les micromammifères ont été capturés en avril, juin et septembre 2005. Les caractéristiques des micromammifères capturés et de l'emplacement des tranches ont été relevées. Les données météorologiques ont été fournies par Météo France.

Deux analyses de correspondances multiples (ACM) ont été réalisées afin de décrire la répartition des tiques et des micromammifères dans le paysage bocager. Ensuite, un modèle binomial négatif du nombre de larves *I. ricinus*

transportées par micromammifère a été construit en conservant l'espèce des micromammifères comme variable explicative principale. En conséquence, les variables explicatives corrélées à l'espèce des micromammifères n'ont pas été insérées dans le modèle.

15,4% des tranches ont contenu des larves. 2092 nymphes et 220 adultes *I. ricinus* ont été collectés. Les ACM ont permis de regrouper les caractéristiques des tranches en trois entités distinctes, à savoir milieu de pâture, haie et bois. Ainsi, nous avons montré que les tiques étaient plus nombreuses dans les bois, un peu moins dans les haies, et beaucoup moins sur les milieux de pâtures. Les micromammifères étaient, quant à eux, davantage concentrés dans les haies que dans les bois, et très peu sur les milieux de pâtures. 40,7% des 194 captures de petits mammifères ont concerné le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus* capturé principalement dans les haies et les bois), 9,3% le mulot à collier (*Apodemus flavicollis*, principalement situé dans les bois), 13,4% le campagnol des champs (*Microtus arvalis* capturé en milieu de pâture), 6,2% la musaraigne musette (*Crocidura russula*, principalement localisée au milieu des pâtures), 21,6% le mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*, présent dans tous les milieux), et 8,8% la musaraigne sores (*Sorex* spp., surtout présente dans les haies). Au travers des entités milieu de pâture/haie/bois, les distributions des espèces de micromammifères et du nombre de tiques sur les tranches n'étaient donc pas indépendantes.

Un modèle binomial négatif, destiné à expliquer le portage de larves *I. ricinus* par les micromammifères, a montré que le mulot sylvestre était l'espèce la plus infestée (5,4 larves/individu en moyenne). Les musaraignes et les campagnols roussâtres transportaient en moyenne moins de 0,9 larves/individu. Les mâles étaient plus infestés que les femelles, et enfin on trouvait plus de tiques sur les micromammifères quand le temps était relativement sec.

L'étude a permis de confirmer que le bois était l'habitat principal des tiques *I. ricinus*. Le bois procure en effet une couverture végétale assurant une humidité suffisamment élevée pour éviter la dessiccation des tiques. Au milieu des pâtures, l'atmosphère desséchante réduit, à l'inverse, la survie des tiques. Le bois peut donc jouer le rôle de source de tiques, à condition que les tiques puissent se déplacer du bois vers la pâture. Le mulot sylvestre apparaît être un agent de ce déplacement, puisqu'on le trouve dans tous les milieux et que cette espèce est la plus infestée de larves *I. ricinus* parmi les espèces de micromammifères qui ont été observées. Cependant, d'autres animaux sauvages sont susceptibles de faire le lien entre le bois et la pâture, mais sans doute sur de plus longues distances, tels que les chevreuils, les renards, les lièvres, et les oiseaux qui se nourrissent au sol (merles et grives).

The relationships between *Ixodes ricinus* and small mammal species at the woodland-pasture interface

Chloé Boyard · Gwenaël Vourc'h · Jacques Barnouin

Running title: *I. ricinus* at the woodland-pasture interface

Chloé Boyard · Gwenaël Vourc'h · Jacques Barnouin (✉)
INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), UR346 Epidémiologie
Animale, F-63122 Saint Genès Champanelle, France. Phone: +33 (0) 4 73 62 41 48.
Fax: +33 (0) 4 73 62 45 48. E-mail: barnouin@clermont.inra.fr

Abstract *Ixodes ricinus*, as vector, and small mammals, as reservoirs, are implicated in pathogen transmission between wild fauna, domestic animals and humans at the woodland-pasture interface. The ecological relationship between ticks and small mammals was monitored in 2005 on four bocage (enclosed pastureland) sites in central France, where questing ticks were collected by dragging and small mammals were trapped. Questing *I. ricinus* tick and small mammal locations in the environment were assessed through correspondence analysis. *I. ricinus* larval burden on small mammals was modeled using a negative binomial law. The correspondence analyses underlined three landscape features: grassland, hedgerow, and woodland. Seven small mammal species were trapped, while questing ticks were all *I. ricinus*, with the highest abundance in woodland and the lowest in pasture. The small mammals were overall more abundant in hedgerow, less present in woodland and sparse in grassland. They carried mainly *I. ricinus*, and secondarily *I. acuminatus* and *I. trianguliceps*. The most likely profile for a tick-infested small mammal corresponded to a male wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) in woodland or hedgerow during a dry day. *A. sylvaticus*, which was the only species captured in grassland, but was also present in hedgerow and woodland, may be a primary means of transfer of *I. ricinus* larvae from woodland to pasture.

Key words *Ixodes ricinus*, small mammal, woodland, hedgerow, pasture, ecotone

Introduction

The emergence of tick-borne disease in temperate regions of the Northern hemisphere appears to be mainly related to forest management involving reforestation and conditions favouring an increase in populations of deer (Barbour and Fish 1993; Morse 1995; George and Chastel 2002; Steere et al. 2004). Because many tick-borne pathogens are shared between domestic animals, wildlife, and humans (e.g. *Borrelia*

burgdorferi s.l., *Anaplasma phagocytophilum*, tick-borne encephalitis virus), understanding how ticks circulate between wildlife and domestic animals is important to evaluate the risk of disease outbreak (Chomel 1998).

The abundance of the pathogen-transmitting *Ixodes ricinus* tick is affected by abiotic (habitat structure, climate) and biotic (host community composition) conditions (Gray 2002). Woodlands offer the most suitable habitat for *I. ricinus* (Gilot et al. 1975; Aeschlimann 1981; Gray 1998), providing both a humid shelter protecting the tick from desiccation and a host community ensuring tick feeding success. Grassland is regarded as a less suitable habitat for *I. ricinus* than woodland, most likely because of the dryer atmosphere (Daniel et al. 1977; L'Hostis et al. 1995b; L'Hostis and Seegers 2002). Nevertheless, *I. ricinus* is present on grazed pastures located in a bocage landscape (a countryside with woodland and pasture enclosed by hedgerows, earth banks or rows of trees, L'Hostis et al. 1995b; Mémeteau et al. 1998; Boyard et al. 2007). We hypothesized that immigration from neighbouring woodland is critical for the maintenance of tick population on pastures (Boyard et al. 2007). Small mammals such as the bank vole (*Myodes [Clethrionomys] glareolus*) and the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*), are potential tick- and pathogen-carriers since they are permanent inhabitants of bocage (Le Louarn and Quéré 2003), important hosts for *I. ricinus* larvae (Gray 2002) and reservoirs for *Borrelia burgdorferi* s.l., the agent of Lyme disease (Humair et al. 1999).

The aim of the paper was to identify, through a field study, small mammal species that could convey *I. ricinus* at the woodland-pasture interface. These small mammals should be a priori characterized by high infestation levels and by using woodland, hedgerow and grassland habitats. The study was conducted in a bocage region in France that was endemic for human Lyme disease (Arzouni 1990) and bovine babesiosis (L'Hostis et al. 1995a). The following questions were addressed: 1) where was *I. ricinus* located in the bocage landscape? 2) What was the distribution of small mammal species within this landscape? 3) Which small mammals could be responsible for *I. ricinus* transport at the woodland-pasture interface?

Materials and methods

Study sites

The study was conducted in four sites (located at Dontreix [site 1]: 46.0°N, 2.5°E; Bussièrès [site 2]: 46.1°N, 2.6°E; Marcillat [site 3]: 46.1°N, 3.0°E; Le Quartier [site 4]: 46.1°N, 2.7°E), belonging to commercial bovine farms of the Combrailles, a region of central France. Each study site included a central permanent grazed pasture for cattle of approximately 1ha, and the neighbouring pastures, hedgerows and woodlands. The central grazed pastures of sites 1, 2, and 4, hosted ten, 14, and nine heifers respectively. The grazing heifers were observed on the whole pasture area (Boyard 2007). The central pastures were selected from a set of previously sampled pastures to study environmental factors affecting *I. ricinus* nymph abundance (Boyard et al. 2007). The pasture selection criteria were: 1) at least a third of the pasture surrounded by woodland, 2) no building or road in the vicinity of the pasture, 3) no marshland in the pasture, 4) no significant variation of questing nymph abundance observed within pasture between 2003 (Boyard et al. 2007) and 2004 (unpublished data), 5) a marked difference in questing nymph abundance between pastures (ranging from <0.1 for site 1 to 10 nymphs/m² for site 4).

Tick and rodent sampling design

Tick collection and small mammal trapping were carried out on six transects, one along the inner pasture perimeter, one along the outer pasture perimeter, and four traverse transects (Fig. 1). The study transects were divided into 10 m² (10m x 1m) subtransects (STs) separated by a gap of 20 m. Each ST was dragged with a 1 x 1 m white towel to collect ticks (MacLeod 1932; Vassallo et al. 2000). Additionally, INRA© live-traps for mice and shrews were set at 1 m before each end of all STs. The traps on the pasture perimeter were set in the undergrowth when present.

Tick sampling

Questing ticks were collected monthly from May to September 2005. The following variables were assessed at each ST, over the study period: 1) prevalence of *I. ricinus* larvae, defined as the percentage of infested STs, 2) prevalence and total number of *I. ricinus* nymphs, and 3) prevalence and total number of *I. ricinus* adults.

Trapping of small mammals

Small mammals were captured during three trapping sessions (24th-29th April, 5th-10th June, 18th-3rd September 2005) with INRA© traps (a French model live-trap, described in Guédon et al. (1990), efficient in catching both shrews and rodents) which were baited with a mixture of oat flakes, peanut butter, and sardine oil. Traps were checked each morning at dawn for five consecutive days. Living trapped animals were sacrificed in the field by cervical dislocation and stored in a plastic bag before examination in the laboratory. Attached ticks and those found in the plastic bag, were counted, put in a vial with 70% ethanol, and identified under the microscope (Cotty 1985). The species of small mammals were identified by their morphological traits (Le Louarn and Quéré 2003). For shrews, species identification was confirmed through genetic analysis performed by the 'Muséum National d'Histoire Naturelle' (Paris). Beside species, potential factors influencing tick burden considered were: (i) whether the animal had died in the trap, (ii) animal weight, (iii) animal sex and sexual features linked to hormone production (length of the seminal vesicle and testicle diameter for males, and pregnancy and lactating status for females), (iv) indirect assessment of immunity (presence of mites, parasites in liver and intestine, spleen weight, data not shown), and (v) indirect estimation of age (crystalline lens weight). Crystalline lenses were extracted from eye globes after three months soaking in 10% formaldehyde solution. Except for shrews, whose crystalline lens is too small, the lenses were then dried for 24 hours at 95°C and weighed (Martinet 1966; Le Louarn 1971; Quéré and Vincent 1989). As juveniles are expected to be absent during the April session, the threshold between adults and juveniles was set, within each species, as the minimum lens weight in April (Le Pesteur et al. 1992).

Small mammal presence in the environment considered trapping effort, i.e. the number of trap-nights corrected by a factor of 0.5 if the trap was closed without capture (Nelson and Clark 1973). An index of abundance was obtained, which was expressed as the number of individuals per 100 trapping efforts. Small mammal presence variations between sites and trapping sessions were tested with chi-square tests.

ST characteristics and meteorological data

Each ST was characterized by: 1) herbaceous layer height (nil; <10 cm; 10 to 30 cm; >30 cm), 2) vegetation type (grass; hedgerow between two pastures; hedgerow between a pasture and woodland; undergrowth), 3) connection status with woodland (no connection; direct connection if the ST was in woodland; indirect connection if the ST bordered a hedgerow running to woodland), and 4) location (middle of the pasture; inner/outer pasture perimeter; or woodland). In addition, the presence of the most represented tree types in the direct ST vicinity was recorded: beech (*Fagus sylvatica*), ash (*Fraxinus excelsior*), oaks (*Quercus* spp.), conifers (*Abies* spp., *Picea* spp. and *Cedrus atlantica*), hazel (*Corylus avellana*), chestnut (*Castanea sativa*) and sweet chestnut (*Aesculus hippocastanum*). The presence of apple and plum trees (*Malus* spp. and *Prunus domestica*) was also recorded, as fruit trees were previously found to correlate with tick abundance (Boyard et al. 2007).

Meteorological data, provided by 'Météo-France' from the meteorological station of Saint-Gervais d'Auvergne, were mean values of daily minimum temperature for the two days overlapping the trapping nights, mean values of daily maximum temperature, mean values of daily minimum relative humidity, and mean values of daily maximum relative humidity (2d max humidity).

Database

The data were stored in an Access 2000 (Microsoft France, Courtaboeuf, France) relational database organized in 47 tables. Checking procedures for data validity were conducted, which entailed inspecting the record forms completed in the field and implementing automatic procedures to detect erroneous entries.

Statistical analyses

The distributions of questing ticks and small mammals in the local environment were first analyzed by correspondence analysis (CA) models (Hill 1974) using the ade4 R package (Chessel et al. 2006) of the statistical software 'R' (R Development Core Team, 2005).

For questing tick distribution in the environment, CA was performed including the potential explanatory variables related to ST position in the environment (site, vegetation type, connection status with woodland, location, tree types). Then, variables of interest (presence/absence of *I. ricinus* larvae on each ST, total number of nymphs per ST, and total number of adults per ST) were projected on the resulting factorial space. The factorial space was divided into four quadrants according to the two first principal components. Differences in the distribution between the quadrants were assessed for the presence/absence of *I. ricinus* larvae using the chi-square test, and for the number of collected *I. ricinus* nymphs and adults using the Kruskal-Wallis test (Benzécri 1992).

In the CA model for small mammal distribution in the environment, potential explanatory variables included, in addition to those used in the questing tick model, the trapping session and the herbaceous layer height. To correct for variation in sampling effort, each level of explanatory variables was weighted with the corresponding trapping effort. Then, the presence of small mammals and the species were projected on the resulting factorial space. Differences in the small mammal distribution between the quadrants were assessed using a chi-square test (Benzécri 1992).

The association between *I. ricinus* larvae burden on small mammals and explanatory variables was assessed using a negative binomial model with backward elimination at P -value <0.05 (glm.nb function of R, R Development Core Team 2005). Such models are frequently used to model burden of ticks and other parasites (Shaw et al. 1998; Randolph et al. 1999). Two questions were addressed: (1) what factors explain tick burden variation among all individuals, taking into account ‘species’ as the structuring variable? (2) For each species, does tick burden vary according to the animal location in the landscape? For the first question, beside species, potential explanatory variables included site, presence of questing *I. ricinus* larvae, abundance of questing *I. ricinus* nymphs and adults, trapping session, small mammal characteristics, meteorological data, and small mammal coordinates on first and second principal components of the small mammal CA summarizing ST characteristics. Prior to this negative binomial modeling, variables were selected using univariate tests. Quantitative variables were divided into two or three categories of equal size depending on variable distribution. Kruskal-Wallis tests and rank sum tests were performed for categorical and binary data, respectively, between potential explanatory variables and larvae burden (selection threshold: P -value <0.1). To avoid redundancy in explanatory variables, correlations among the candidate variables were analysed using chi-square tests. In the present study, the small mammal species was the key structuring explanatory variable, therefore all the variables correlated (P -value <0.05) with the species were removed. Concerning the other correlated variables, the less significant through the univariate tests were removed. In the final negative binomial model, rate parameter estimates of each significant variable were used to assess the relative change in larval abundance for one level compared to a reference. The adjustment of the predicted negative binomial distribution to the observed distribution was assessed using a chi-square test. For the second question, only species for which tick burden was significantly correlated to small mammal coordinates on the first and/or the second principal component of small mammal CA (P -value <0.1) were considered. A ‘one-species’ negative binomial model was fitted, that included the remaining variables of the ‘multi-species’ model and the significant principal component(s) divided into three classes.

Results

Questing ticks

The presence of *I. ricinus* larvae was recorded in 35 STs out of 223 (15.4%). 2092 *I. ricinus* nymphs and 220 *I. ricinus* adults were sampled (see prevalences and mean abundances per transect in Table 1). Two nymphs and four adults (three males, one female) of *Dermacentor reticulatus* were also collected. The highest tick density was observed in site 4, whilst the lowest occurred in site 2 (Table 1).

The questing tick CA showed, for every life stage, that tick distribution depended on ST characteristics (P -values for differences between quadrants for larvae, nymph and adult <0.001). The first and the second principal components represented, respectively, 19.6% and 14.7% of the projected inertia. Vegetation type, connection status with woodland, and location defined the factorial space (correlation coefficients with components 1 and 2 >0.60). The modalities of these variables characterized three dominant landscape features: woodland, grassland, and hedgerow. The lower left axis-bounded quadrant (Fig. 2) corresponded to woodland (STs lying in undergrowth and

direct connection with woodland), the upper left quadrant to hedgerows adjacent to woodland (STs lying along hedgerows with connection with woodland), the upper right quadrant to hedgerows between two pastures, and the lower right quadrant to grassland (STs lying in grass, no connection with woodland). Larvae, nymphs, and adult females were more prevalent/abundant in the lower left quadrant (e.g. see nymphs Fig. 2). Adult males were also more prevalent in the lower left quadrant, but their abundance was higher in the upper left quadrant (Table 1).

Small mammals

A total of 194 animals were captured, belonging to seven different species. Bank vole (*Myodes glareolus*) was the most abundant species, representing 40.7% of all captures. Wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) represented 21.6% of all captures, common vole (*Microtus arvalis*) 13.4%, yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*) 9.3%, common shrew (*Sorex araneus*) and French shrew (*Sorex coronatus*) 8.8%, and greater white-toothed shrew (*Crocidura russula*) 6.2% of captured small mammals.

Small mammal presence varied between sites and session (P -values =0.041 and <0.001, respectively). Site 3 showed the greatest number of captured animals relative to trapping effort and 63% of the captures occurred in September (Table 2). In April, only four species were represented: *A. sylvaticus*, *M. glareolus* and *Sorex* spp.

Weight, sex ratio, reproductive traits, percentage of juveniles and percentage of individuals found dead in the traps are displayed per species in table 3. Mean weight per species varied from 6.4 g to 26.1 g. Sex ratio varied from 0.86 for *M. arvalis* to 2.00 for *A. flavicollis*. In this species, no females were found pregnant, while 64% of *M. arvalis* females were pregnant. Moreover, most *Sorex* spp were found dead in the traps.

The small mammal CA revealed the same landscape features as the questing tick CA, was defined by the same variables (correlation coefficients with principal components 1 and 2 >0.65), and the descriptions of quadrants were similar. The first and the second principal components represented respectively 17.2% and 11.8% of the projected inertia. Small mammal presence differed between landscape features (P -values for differences between quadrants: <0.001). Small mammals were more often captured near hedgerows (6.18 individuals per 100 trapping efforts in hedgerows between two pastures, vs. 3.03 in woodland, 3.53 in hedgerows connected with woodland, and 1.50 in grassland). The species also differed significantly according to landscape features (Fig. 3). *A. sylvaticus* was found overlapping all the landscape features with the highest prevalence in hedgerows. *A. flavicollis* was always captured in STs connected with woodland and *M. glareolus* in hedgerows as well as in woodland. Only 1 *M. glareolus* was trapped in grassland. Moreover, *M. arvalis* was more prevalent on grassland, *C. russula* was captured on grassland and in hedgerows between two pastures, and 70% of *Sorex* spp. were found in hedgerows between two pastures.

Tick burden on small mammals

Captured small mammals carried a total of 408 *I. ricinus* ticks (393 larvae and 15 nymphs), 110 *I. acuminatus* (106 larvae, one nymph and three adult females), and 13 *I. trianguliceps* (two larvae and 11 nymphs) (Table 4). Species identification could not be confirmed for six *Ixodes* sp. and one *Dermacentor* sp. (not shown). *I. ricinus* and *I. trianguliceps* were found on the four sites, while *I. acuminatus* was only found on 17 individuals of site 1 and two individuals of site 3. Moreover, *I. acuminatus* larva burden in site 1 reached the level of site 3 and site 4 for *I. ricinus* larva burden.

After univariate variable selection and correlation tests, all small mammal variables but species, sex and 2d max humidity were dropped. It is worth noticing that trapping session, which was correlated to species, was also correlated to maximum humidity since 28 out of 49 animals captured in June were trapped by 'dry' days (2d max humidity: 82-89%), vs. nine out of 23 in April, and 0 out of 122 in September. The regression model was thus performed with the three explanatory variables which were all significant (Table 5, dispersion parameter $\emptyset = 1.78$). The chi-square statistic indicated that the data fitted the model (P -value = 0.806, Fig. 4). Mice (*A. sylvaticus* and *A. flavicollis*) had the highest larvae burdens. *M. arvalis* presented an intermediate larvae burden, while *Sorex* spp., *M. glareolus*, and *C. russula* were poorly infested. Males were more infested than females. Higher larvae burdens were observed during the periods of lower relative humidity.

In the one-species approach, *I. ricinus* larvae burden of only *A. sylvaticus* and *C. russula* were significantly correlated to small mammal coordinates on the first and the second principal components of small mammal CA respectively. The negative binomial analysis for *A. sylvaticus* showed that all explanatory variables were significant and the data fitted the model (P -value = 0.807, $\emptyset = 1.34$). *A. sylvaticus* carried 4.8-fold more larvae in woodland (confidence interval (c.i.) at 95%: 1.72-13.40) and 2.6-fold more larvae in hedgerow (c.i.: 0.90-7.46) than in grassland not connected to woodland. Males carried 3.7-fold more larvae than females (c.i.: 1.44-9.65), and when the weather was drier, *A. sylvaticus* carried 9.4-fold more *I. ricinus* larvae than during high humidity periods (c.i.: 3.53-25.37). For *C. russula*, the only significant explanatory variable was the coordinates on the second principal component. *C. russula* carried 18.0-fold more *I. ricinus* larvae when captured in hedgerows than when in grassland (c.i.: 2.28-142.09, P -value for goodness of fit = 0.865, dispersion parameter $\emptyset < 0.001$).

Discussion

In the bocage region of the Combrailles, where pasture enclosed by hedgerows alternated with woodland, we found that questing *I. ricinus* abundance decreased from woodland to hedgerow and from hedgerow to the middle of the pasture. This finding is consistent with previous studies showing that in open pasture, ticks suffer from desiccation, resulting in lower survivorship than in woodland or at woodland edges (Daniel et al. 1976, 1977), and that *I. ricinus* were found in higher abundance along hedgerows in pastures tightly linked to woodland vicinity (L'Hostis et al. 1995b; Boyard et al. 2007). Questing tick distribution in the environment is the result of their location when they detached from hosts, of their survival capability, questing activity and lateral movements, although *I. ricinus* ticks are considered to move no more than a few meters (Gray 1985; Carroll and Schmidtman 1996).

The simultaneous observation of small mammals on the study sites led to an index of abundance rather small, but in accordance with the normal fluctuation found in France (Le Louarn and Quéré 2003; Pascal et al. 2005). Only one small mammal species, *A. sylvaticus*, used all three habitat types, woodland, hedgerow and grassland. Furthermore, this species had the highest *I. ricinus* larval burden, which also varied consistently according to habitat types. Thus *A. sylvaticus* appears to be the best candidate of the species we studied to transport tick larvae between habitats and act as an 'epidemiological bridge' between woodlands and pastures. The large home range of

A. sylvaticus (1000-2000 m², Le Louarn and Quéré 2003) would allow the species to pick up larvae in woodlands and carry them into pastures, directly or through hedgerow channels. The other small mammal species would be less efficient at crossing the ecotones (Despommier et al. 2007) and spreading the ticks because their home range did not include grassland (*A. flavicollis*, *M. glareolus*), or because these species had low levels of tick infestation (*M. glareolus*, *M. arvalis*, *C. russula* and *Sorex* spp).

Tick burden on small mammals varied following the same pattern as questing ticks in the landscape. However, it is not easy to distinguish between a species and a habitat effect since mammal species are generally linked to habitat types. Indeed, *I. ricinus* larvae burden was higher in two out of three species living in woodland (*A. sylvaticus* and *A. flavicollis*), whilst the larvae burden was minimal for the shrews (*C. russula* and *Sorex* spp.) which were rarely trapped in woodland. The lower burden of ticks in shrews has been found in several studies (L'Hostis et al. 1996; Liz et al. 2000) though not all (Tälleklint and Jaenson 1994). The effect of mammal exposure to ticks is apparent in the one-species models, where 80% of tick-infested *C. russula* were trapped in hedgerows, and where *A. sylvaticus* was more heavily infested in woodland and hedgerow than on grassland. Conversely, the effect of species is clearly apparent in the case of *M. glareolus*, which was found mainly in woodland but had a significant lower burden than other woodland species (*Apodemus* spp.) and slightly less than *M. arvalis*, which was pasture-specific.

Significant lower larval burden of *M. glareolus* compared to *Apodemus* spp. has been previously reported (L'Hostis et al. 1996; Tälleklint and Jaenson 1997; Hanincova et al. 2003; Michalik et al. 2003; Stanko et al. 2007) and could be due to a greater home range and a better roaming within the home range for *Apodemus* spp. (Tälleklint and Jaenson 1997; Le Louarn and Quéré 2003), and/or a better immunity against *I. ricinus* for *M. glareolus* (Dizij and Kurtenbach 1995; Hughes and Randolph 2001). The tendency (not significant) to have a higher tick burden for *M. arvalis* than *M. glareolus* is surprising compared to other studies (L'Hostis et al. 1996; Sinski et al. 2006; Stanko et al. 2007) and to the fact that *M. arvalis* was not found in woody vegetation and has a smaller home range (from 25 in winter to 500 m² in summer, Le Louarn and Quéré 2003).

The other factors influencing larvae burden were sex and 2d max humidity. The higher infestation of males compared to females is a recurrent finding in parasitology. It has been linked to high testosterone levels which can impair the immune response (Klein 2004) and to different sizes of home range according to sex (Le Louarn and Quéré 2003). The probability for a small mammal of encountering *I. ricinus* larvae appeared to be greater when the weather was relatively dry (2d max humidity: 82-89%). This could be interpreted as an effect of humidity on questing height or mobility, which in turns affects which species the ticks can feed on (Randolph and Storey 1999). The higher humidity, the higher up the tick would quest on the vegetation and the most likely they are to quest above small mammals height. Moreover, ticks, especially larvae, are far less mobile in wet condition (Perret et al. 2003). Alternatively, the difference in humidity could reflect a trapping session effect, as more small mammals were trapped in dry days in April and June than in September, when tick burden was the lowest in small mammals (trapping session was significantly correlated to tick burden in univariate test, P -value = 0.036) and when questing larvae are less frequent (data not shown).

The two other main tick species found on small mammals, *I. acuminatus* and *I. trianguliceps*, which inhabit burrows (Hillyard 1996), are never found on the vegetation (Gilot et al. 1992), but could be involved in pathogen transmission (Bown et al. 2003; Bown et al. 2006). In the Combraillies area, *I. trianguliceps* appeared to be of low importance as the species was not abundant, while *I. acuminatus* was located in a single site (site 1). However, the epidemiological role of *I. acuminatus* must not be overlooked in this site where it outnumbered 2-fold *I. ricinus* found on the trapped animals.

In the present study, questing tick and small mammal abundances overall varied the same way in the environment. Although *I. ricinus* were more abundant in woodland and small mammals appeared more concentrated in hedgerow, they were both relatively rare on pasture. However, the site with the highest small mammal abundance (site 3) did not display the highest density of questing ticks (site 4). Such discrepancy has previously been obtained for *Peromyscus leucopus* and *Ixodes scapularis* in the United States (Lindsay et al. 1999). The host role for other species than small mammals should be investigated to have a complete overview of the relative contribution of *I. ricinus* hosts. Using the detection of host DNA in questing nymphs, rodents (Pichon et al. 2006) and artiodactyls (Morán Cadenas et al. 2007) were shown to be the main larvae hosts in continental European forests. The presence of wild animal species, possibly involved in the *I. ricinus* cycle at the woodland-pasture interface, has been investigated in the study sites (Vourc'h et al. in press). Roe deer (*Capreolus capreolus*), which was present in the 4 sites and the 3 habitats (pasture, woodland and hedgerow), as did 3 other mammals (*Lepus europaeus*, *Martes martes*, *Vulpes vulpes*) and 6 ground foraging bird species (*Buteo buteo*, *Strix aluco*, *Corvus corone*, *Garrulus glandarius*, *Columba palumbus*, *Fringilla coelebs*, *Picus viridis*), could be hosts for *I. ricinus* in our study conditions. Moreover, grazing cattle, which are important hosts for adult *I. ricinus*, are likely to contribute to the maintenance of tick populations on pastures.

In multi-host pathogen system, assessing the relative contribution of host species to the circulation of the pathogen is one of the major challenges facing epidemiologists (Haydon et al. 2002). The woodland-pasture ecotone could be considered as a model to study the role of the wildlife-human-domestic animal interface (Cleaveland et al. 2001) in the emergence of tick-borne diseases and other epidemiological pathways including a complexity of hosts and pathogens (Despommier et al. 2007). In this current study, *A. sylvaticus* was highlighted as the most important of the small mammal species we studied as tick larvae carrier contributing to the maintenance of tick populations on pastures at the woodland-pasture interface. This species is also known to be a reservoir for *Borrelia burgdorferi* s.l. (Kurtenbach et al. 1998; Humair et al. 1999), for tick-borne encephalitis virus (Randolph et al. 1999) as well as for *Mycobacterium microti* which has been implicated in severe forms of human tuberculosis (Cavanagh et al. 2002). Moreover, this rodent could play a significant role in the ecology of leptospire (Tremblay et al. 2002). Further effort should focus on the study of the pathogen distribution in the hosts and landscape, the pathogen genetic diversity and its possible link to hosts and landscape, and the potential role of other vertebrate species at different scales. Such studies undoubtedly require a high level of multidisciplinary cooperation (Stephens et al. 1998) and material means, and require solving numerous methodological biases regarding scale, biological sampling, analytical markers and modeling procedures.

Acknowledgments Very sincere thanks to Michel Pascal for his valuable help concerning small mammal management, to Sarah Samadi and the other colleagues of the ‘Service de Systématique Moléculaire’ of the ‘Muséum National d’Histoire Naturelle’, to Maria Diuk-Wasser for helpful comments on the manuscript, and to Patrick Gasqui for statistical advice. Great thanks to the field team: Valérie Poux, Anne-Sophie Martel, Adrien Debroux, Arnaud Augé-Sabatier, Alexandre Teynié and to the laboratory colleagues who endured field experiences with such good grace. Gratitude to Nelly Dorr for the database maintenance, to Nelly Marquetoux for crystalline lens weighing, and to the farmers for their thoughtful cooperation. A special thanks to the Barrier family for its friendly hospitality.

References

- Aeschlimann A (1981) The role of hosts and environment in the natural dissemination of ticks. Studies on a Swiss population of *Ixodes ricinus* L., 1758. Rev adv parasitol 4:859-869
- Arzouni J-P (1990) Une enquête séro-épidémiologique dans le Puy-de-Dôme, à propos de trois maladies transmissibles par les tiques: la maladie de Lyme, la fièvre boutonneuse méditerranéenne, la fièvre Q. Doctorat en médecine. Université Clermont-Ferrand I, France.
- Barbour AG and Fish D (1993) The biological and social phenomenon of Lyme disease. Science 260:1610-1616
- Benzécri J-P (1992) Correspondence analysis handbook. Marcel Dekker, New York
- Bown KJ, Begon M, Bennett M, Birtles RJ, Burthe S, Lambin X, Telfer S, Woldehiwet Z and Ogden NH (2006) Sympatric *Ixodes trianguliceps* and *Ixodes ricinus* ticks feeding on field voles (*Microtus agrestis*): potential for increased risk of *Anaplasma phagocytophilum* in the united kingdom? Vector Borne Zoonotic Dis 6:404-410
- Bown KJ, Begon M, Bennett M, Woldehiwet Z and Ogden NH (2003) Seasonal dynamics of *Anaplasma phagocytophila* in a rodent-tick (*Ixodes trianguliceps*) system, United Kingdom. Emerg Infect Dis 9:63-70
- Boyard C (2007) Facteurs environnementaux de variation de l'abondance des tiques *Ixodes ricinus* dans des zones d'étude modèles en Auvergne. Thèse de Doctorat d'Université. Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand II. 231 pp.
- Boyard C, Barnouin J, Gasqui P and Vourc'h G (2007) Local environmental factors characterizing *Ixodes ricinus* nymph abundance in grazed permanent pastures for cattle. Parasitology 134:987-994
- Carroll JF and Schmidtman ET (1996) Dispersal of blacklegged tick (Acari:Ixodidae) nymphs and adults at the woods-pasture interface. Journal of Medical Entomology 33:554-558
- Cavanagh R, Begon M, Bennett M, Ergon T, Graham IM, de Haas PEW, Hart CA, Koedam M, Kremer K, Lambin X, Roholl P and van Soolingen D (2002) Mycobacterium microti infection (vole tuberculosis) in wild rodent populations. J Clin Microbiol 40:3281-3285
- Chessel D, Dufour A-B and Dray S (2006). ade4: analysis of environmental data : exploratory and euclidean method, R package version 1.4-2. [Online] <http://cran.r-project.org/>. Last access: 15/03/2007.

- Chomel BB (1998) New emerging zoonoses: a challenge and an opportunity for the veterinary profession. *Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases* 21:1-14
- Cleaveland S, Laurenson MK and Taylor LH (2001) Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356:991-999
- Cotty A (1985). Clé de détermination des Ixodidae et Amblyommidae de Suisse. Université de Neuchâtel, Neuchâtel, Switzerland.
- Daniel M, Cerny V, Dusbabek F, Honzakova E and Olejnicek J (1976) Influence of microclimate on the life cycle of the common tick *Ixodes ricinus* (L.) in the thermophilic oak forest. *Folia Parasitol (Praha)* 23:327-342
- Daniel M, Cerny V, Dusbabek F, Honzakova E and Olejnicek J (1977) Influence of microclimate on the life cycle of the common tick *Ixodes ricinus* (L.) in an open area in comparison with forests habitats. *Folia Parasitol (Praha)* 24:149-160
- Despommier D, Ellis BR and Wilcox BA (2007) The role of ecotones in emerging infectious diseases. *EcoHealth* 3:281-289
- Dizij A and Kurtenbach K (1995) *Clethrionomys glareolus*, but not *Apodemus flavicollis*, acquires resistance to *Ixodes ricinus* L., the main European vector of *Borrelia burgdorferi*. *Parasite Immunol* 17:177-183
- George JC and Chastel C (2002) Maladies vectorielles à tiques et modifications de l'écosystème en Lorraine. *Bull Soc Pathol Exot* 95:95-100
- Gilot B, Couatarmanac'h A, Guigen C and Beaucornu JC (1992) Bio-écologie d'*Ixodes acuminatus* Neumann, 1901: hôtes et répartition spatio-temporelle de l'espèce en France. *Ann Parasitol Hum Comp* 67:19-25
- Gilot B, Pautou G and Moncada E (1975) L'analyse de la végétation appliquée à la détection des populations de tiques exophiles dans le Sud-Est de la France: l'exemple d'*Ixodes ricinus* (Linné 1798) (Acarina, Ixodoidea). *Acta Tropica Separatum* 32:340-347
- Gray JS (1985) A carbon dioxide trap for prolonged sampling of *Ixodes ricinus* L. populations. *Experimental and Applied Acarology* 1:35-44
- Gray JS (1998) Review: The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. *Exp Appl Acarol* 22:249-258
- Gray JS (2002) Biology of *Ixodes* species ticks in relation to tick-borne zoonoses. *Wien Klin Wochenschr* 114:473-478
- Hanincova K, Schäfer SM, Etti S, Sewell H-S, Taragelova V, Ziak D, Labuda M and Kurtenbach K (2003) Association of *Borrelia afzelii* with rodents in Europe. *Parasitology* 126:11-20
- Haydon DT, Cleaveland S, Taylor LH and Laurenson MK (2002) Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerg Infect Dis* 8:1468-1473
- Hill MO (1974) Correspondence analysis: a neglected multivariate method. *Appl Stat* 23:340-354
- Hillyard PD (1996) Ticks of the North-West Europe. Field Studies Council, Shrewsbury, United Kingdom
- Hughes VL and Randolph SE (2001) Testosterone depresses innate and acquired resistance to ticks in natural rodent hosts: a force for aggregated distributions of parasites. *J Parasitol* 87:49-54

- Humair PF, Rais O and Gern L (1999) Transmission of *Borrelia afzelii* from *Apodemus* mice and *Clethrionomys voles* to *Ixodes ricinus* ticks: differential transmission pattern and overwintering maintenance. *Parasitology* 118:33-42
- Klein SL (2004) Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunol* 26:247-264
- Kurtenbach K, Peacey M, Rijpkema SGT, Hoodless AN, Nuttall PA and Randolph SE (1998) Differential transmission of the genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato by game birds and small rodents in England. *Appl Environ Microbiol* 64:1169-1174
- L'Hostis M, Chauvin A, Valentin A, Marchand A and Gorenflot A (1995a) Large scale survey of bovine babesiosis due to *Babesia divergens* in France. *The Veterinary Record* 14:36-38
- L'Hostis M, Dumon H, Dorchies B, Boisdrion F and Gorenflot A (1995b) Seasonal incidence and ecology of the tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on grazing pastures in Western France. *Exp Appl Acarol* 19:211-220
- L'Hostis M, Dumon H, Fusade A, Lazareff S and Gorenflot A (1996) Seasonal incidence of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on rodents in western France. *Exp Appl Acarol* 20:359-368
- L'Hostis M and Seegers H (2002) Tick-borne parasitic diseases in Cattle: Current knowledge and prospective risk analysis related to the ongoing evolution in French cattle farming systems. *Vet Res* 33:599-611
- Le Louarn H (1971) Détermination de l'âge par la pesée des cristallins chez quelques espèces de rongeurs. *Mammalia* 35:636-643
- Le Louarn H and Quéré J-P (2003) Les rongeurs de France: Faunistique et biologie. 2e edn. INRA, Paris
- Le Pesteur MH, Giraudoux P, Delattre P, Damange JP and Quéré J-P (1992) Spatiotemporal distribution of four species of cestodes in a landscape of mid-altitude mountains (Jura, France). *Ann Parasitol Hum Comp* 67:155-160
- Lindsay LR, Mathison SW, Barker IK, McEwen SA and Surgeoner GA (1999) Abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs in relation to host density and habitat on Long Point, Ontario. *J Med Entomol* 36:243-254
- Liz JS, Anderes L, Sumner JW, Massung RF, Gern L, Rutti B and Brossard M (2000) PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. *J Clin Microbiol* 38:1002-1007
- MacLeod J (1932) The bionomics of *Ixodes ricinus* L., the "sheep tick" of Scotland. *Parasitology* 24:382-400
- Martinet L (1966) Détermination de l'âge chez le Campagnol des champs (*Microtus arvalis pallas*) par la pesée du cristallin. *Mammalia* 30:425-430
- Mémeteau S, Seegers H, Jolivet F and L'Hostis M (1998) Assessment of the risk of infestation of pastures by *Ixodes ricinus* due to their phyto-ecological characteristics. *Vet Res* 29:487-496
- Michalik J, Hofman T, Buczek A, Skoracki M and Sikora B (2003) *Borrelia burgdorferi* s.l. in *Ixodes ricinus* (Acari : ixodidae) ticks collected from vegetation and small rodents in recreational areas of the City of Poznan. *J Med Entomol* 40:690-697
- Morán Cadenas F, Rais O, Humair PF, Douet V, Moret J and Gern L (2007) Identification of host bloodmeal source and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in

- field-collected *Ixodes ricinus* ticks in Chaumont (Switzerland). *Journal of Medical Entomology* 44:1109-1117
- Morse SS (1995) Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* 1:7-15
- Nelson L and Clark FW (1973) Correction for sprung traps in catch/effort calculations of trapping results. *J Mammal* 54:295-298
- Pascal M, Siorat F, Lorvelec O, Yésou P and Simberloff D (2005) A pleasing consequence of Norway rat eradication: two shrew species recover. *Diversity and distributions* 11:193-198
- Perret J-L, Guerin PM, Diehl PA, Vlimant M and Gern L (2003) Darkness induces mobility, and saturation deficit limits questing duration, in the tick *Ixodes ricinus*. *The Journal of Experimental Biology* 206:1809-1815
- Pichon B, Egan D, Rogers M and Gray J (2003) Detection and identification of pathogens and host DNA in unfed host-seeking *Ixodes ricinus* L. (Acari : Ixodidae). *J Med Entomol* 40:723-731
- Quéré J-P and Vincent J-P (1989) Détermination de l'âge chez le Mulot gris (*Apodemus sylvaticus* L., 1758) par la pesée des cristallins. *Mammalia* 53:287-293
- R Development Core Team (2005). R: a language and environment for statistical computing, version 2.2.1. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Randolph SE, Miklisova D, Lysy J, Rogers DJ and Labuda M (1999) Incidence from coincidence: patterns of tick infestations on rodents facilitate transmission of tick-borne encephalitis virus. *Parasitology* 118:177-186
- Randolph SE and Storey K (1999) Impact of microclimate on immature tick-rodent host interactions (Acari: Ixodidae): implications for parasite transmission. *J Med Entomol* 36:741-748
- Shaw DJ, Grenfell BT and Dobson AP (1998) Patterns of macroparasite aggregation in wildlife host populations. *Parasitology* 117:597-610
- Sinski E, Pawelczyk A, Bajer A and Behnke JM (2006) Abundance of wild rodents, ticks and environmental risk of Lyme borreliosis: A longitudinal study in an area of Mazury Lakes district of Poland. *Ann Agric Environ Med* 13:295-300
- Stanko M, Krasnov BR, Miklisova D and Morand S (2007) Simple epidemiological model predicts the relationships between prevalence and abundance in ixodid ticks. *Parasitology* 134:59-68
- Steere AC, Coburn J and Glickstein L (2004) The emergence of Lyme disease. *Journal of Clinical Investigation* 113:1093-1101
- Stephens DS, Moxon ER, Adams J, Altizer S, Antonovics J, Aral S, Berkelman R, Bond E, Bull J, Cauthen G, Farley MM, Glasgow A, Glasser JW, Katner HP, Kelley S, Mittler J, Nahmias AJ, Nichol S, Perrot V, Pinner RW, Schrag S, Small P and Thrall PH (1998) Emerging and reemerging infectious diseases: a multidisciplinary perspective. *The American Journal of The Medical Sciences* 315:64-75
- Tälleklint L and Jaenson TGT (1994) Transmission of *Borrelia burgdorferi* s.l. from mammal reservoirs to the primary vector of Lyme borreliosis, *Ixodes ricinus* (acari: ixodidae), in Sweden. *J Med Entomol* 31:880-886
- Tälleklint L and Jaenson TGT (1997) Infestation of mammals by *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) in south-central Sweden. *Exp Appl Acarol* 21:755-771

- Treml F, Pejcoch M and Holesovska Z (2002) Small mammals - natural reservoir of pathogenic leptospire. *Veterinary Medicine - Czech* 47:309-314
- Vassallo M, Pichon B, Cabaret J, Figureau C and Pérez-Eid C (2000) Methodology for sampling questing nymphs of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), the principal vector of Lyme disease in Europe. *Entomological Society of America* 37:335-339
- Vourc'h G, Boyard C and Barnouin J (in press) Mammal and bird species distribution at the woodland-pasture interface in relation to the circulation of ticks and pathogens. *Ann N Y Acad Sci*

Table 1: Prevalence and mean abundance of questing *Ixodes ricinus* ticks per subtransect (10 m² surface unit) on four sites of the Combrailles region, France

	Larvae		Nymphs		Adult females			Adult males		
	p	p	x	c.i.	p	x	c.i.	p	x	c.i.
Site (# of STs)										
Site 1 (52)	7.7	46.2	2.94	1.67-5.17	17.3	0.25	0.12-0.50	21.2	0.23	0.13-0.41
Site 2 (58)	6.9	46.6	2.21	1.36-3.58	13.8	0.19	0.09-0.40	8.6	0.09	0.04-0.21
Site 3 (56)	14.3	48.2	8.02	4.20-15.30	19.6	0.38	0.19-0.75	14.3	0.23	0.10-0.51
Site 4 (57)	33.3	75.4	23.89	15.04-37.96	43.9	1.21	0.77-1.91	43.9	1.33	0.82-2.16
Quadrant (# of STs)										
lower left (69)	29.0	95.7	24.14	18.23-31.97	52.2	0.94	0.69-1.28	42.0	0.67	0.46-0.96
upper left (60)	20.0	61.7	6.53	3.96-10.78	25.0	0.75	0.38-1.48	26.7	0.93	0.47-1.85
upper right (9)	.	33.3	0.44	0.16-1.23	11.1	0.22	0.02-2.44	.	.	.
lower right (85)	3.5	17.6	0.35	0.19-0.65	1.2	0.02	0.00-0.31	4.7	0.05	0.02-0.13
Total (223)	15.7	54.3	9.38	6.95-12.66	23.8	0.51	0.37-0.71	22.0	0.48	0.33-0.67

Ticks were collected once a month from May to September 2005. For *I. ricinus* larvae, only presence was recorded. Quadrants refer to the axis-bounded quadrants resulting from the correspondence analysis for tick data (see Fig. 2). p = % of infested subtransects, x = mean # of ticks per subtransect, c.i. = confidence interval at 95% computed on the basis of a negative binomial law. '.' substitutes for zero

Table 2: Number of small mammals captured in 2005 on four sites of the Combrailles region, France, per site and trapping session

	<i>As</i>	<i>Af</i>	<i>Mg</i>	<i>Ma</i>	<i>Cr</i>	<i>S</i>	Total # of small mammals	Trapping effort	# of small mammals per 100 trapping efforts
Site									
Site 1	5	6	20	3	1	8	43	1515.5	2.84
Site 2	2	4	32	4	0	4	46	1790.5	2.57
Site 3	21	6	14	12	11	1	65	1600.0	4.06
Site 4	14	2	13	7	0	4	40	1536.0	2.60
Trapping session									
April	11	0	10	0	0	2	23	2201.5	1.04
June	7	4	11	16	5	6	49	2113.0	2.32
September	24	14	58	10	7	9	122	2127.5	5.73
Total	42	18	79	26	12	17	194	6442.0	3.01

Species acronyms: *As* = *Apodemus sylvaticus*, *Af* = *Apodemus flavicollis*, *Mg* = *Myodes glareolus*, *Ma* = *Microtus arvalis*, *Cr* = *Crocidura russula*, *S* = *Sorex* spp. Trapping effort was the number of trap-nights realized, corrected by a factor of 0.5 if the trap was tripped without capture (Nelson et Clark, 1973)

Table 3: Characteristics of the small mammals captured in 2005 on 4 sites of the Combrailles region, France

Small mammal species (# of captured individuals)	Mean weight (s.d.) (g)		Sex ratio*	% of pregnant females	% of lactating females	% of juveniles	% found dead in the trap
<i>As</i> (42)	17.7	(5.9)	1.21	10.5	10.5	50.0	7.1
<i>Af</i> (18)	26.1	(4.8)	2.00	0.0	0.0	38.8	0.0
<i>Mg</i> (79)	17.2	(4.4)	0.98	22.5	27.5	27.8	35.4
<i>Ma</i> (26)	20.6	(6.1)	0.86	64.3	23.1	53.8	46.2
<i>Cr</i> (12)	7.1	(1.7)	1.40	20.0	20.0	ND	41.7
<i>S</i> (17)	6.4	(2.5)	1.13	25.0	0.0	ND	88.2

Acronyms: *As* = *Apodemus sylvaticus*, *Af* = *Apodemus flavicollis*, *Mg* = *Myodes glareolus*, *Ma* = *Microtus arvalis*, *Cr* = *Crocidura russula*, *S* = *Sorex* spp

*Sex ratio = # of males / # of females; ND: Not Determined

Table 4: Tick burden of small mammal species

Tick species Small mammal species (# of individuals)	Larvae			Nymphs			Adult females		
	p	x	c.i.	p	x	c.i.	p	x	c.i.
<i>Ixodes ricinus</i>									
<i>As</i> (42)	66.7	5.38	3.16-9.17	4.8	0.26	0.02-2.75	.	.	.
<i>Af</i> (18)	55.6	2.72	1.22-6.06
<i>Mg</i> (79)	41.8	0.73	0.51-1.05	1.3	0.01	0.00-0.09	.	.	.
<i>Ma</i> (26)	46.2	1.50	0.73-3.10	7.7	0.12	0.02-0.56	.	.	.
<i>Cr</i> (12)	41.7	0.83	0.34-2.03
<i>S</i> (17)	41.2	0.65	0.33-1.29
<i>Ixodes acuminatus</i>									
<i>As</i> (42)	7.1	0.14	0.03-0.60
<i>Af</i> (18)
<i>Mg</i> (79)	15.2	0.70	0.29-1.66	1.3	0.01	0.00-0.09	1.3	0.01	0.00-0.09
<i>Ma</i> (26)	3.8	1.19	0.84-1.70
<i>Cr</i> (12)
<i>S</i> (17)	5.9	0.82	0.49-1.39	.	.	.	5.9	0.12	0.01-1.42
<i>Ixodes trianguliceps</i>									
<i>As</i> (42)	.	.	.	2.4	0.02	0.00-0.17	.	.	.
<i>Af</i> (18)
<i>Mg</i> (79)	2.5	0.03	0.01-0.10	5.1	0.13	0.03-0.50	.	.	.
<i>Ma</i> (26)
<i>Cr</i> (12)
<i>S</i> (17)

No adult male was observed. p = % of infested hosts, x = mean # of ticks per host, c.i. = confidence interval at 95% computed on the basis of negative binomial law. Species acronyms: *As* = *Apodemus sylvaticus*, *Af* = *Apodemus flavicollis*, *Mg* = *Myodes glareolus*, *Ma* = *Microtus arvalis*, *Cr* = *Crocidura russula*, *S* = *Sorex* spp. '.' substitutes for zero

Table 5: Final negative binomial models for *Ixodes ricinus* larvae abundance on small mammals captured on 4 sites of the Combrailles region, France

Variable	Rate parameter	Confidence interval at 95%	
Species			
<i>Myodes glareolus</i>	1	/	
<i>Apodemus sylvaticus</i>	4.39	2.42-7.93	***
<i>Apodemus flavicollis</i>	2.74	1.23-6.10	*
<i>Microtus arvalis</i>	1.55	0.73-3.28	
<i>Crocidura russula</i>	0.79	0.26-2.43	
<i>Sorex spp.</i>	0.86	0.33-2.21	
Sex			
Female	1.00	/	
Male	2.13	1.32-3.43	**
Maximum humidity			
high: 91%-98%	1.00	/	
low: 82%-89%	3.10	1.80-5.35	***

The estimation of linear predictors was considered as asymptotically normally distributed. ‘*’, ‘**’ and ‘***’ indicate significant factors at *P*-values of <0.05, <0.01 and <0.001 respectively.

Captions to figures

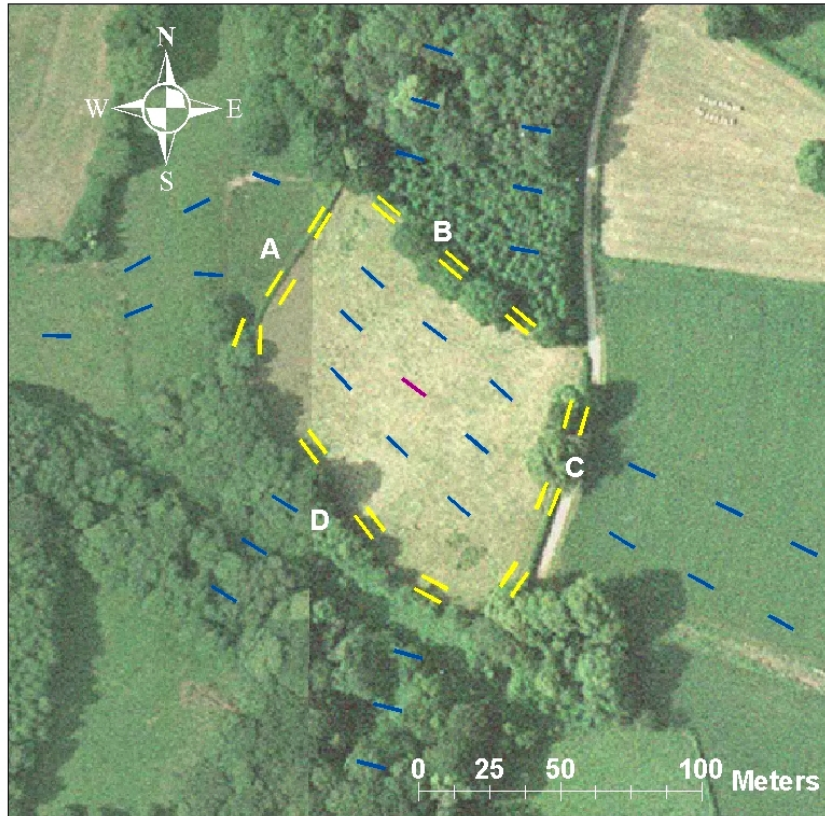
Fig. 1: Layout of subtransects corresponding to site 4 (Le Quartier): 2 transects along inner and outer perimeters of the pasture (yellow rectangles), 2 traverse transects running from **A** to **C** pasture side, and 2 traverse transects running from **B** to **D** pasture side (blue rectangles). Each transect included 10 m² subtransects (STs) separated by a gap of 20 m. The traverse transects presented 3 STs at each side of the pasture. STs of the 2 first traverse transects were oriented parallel to the woodland edge or the main hedgerow. STs of the 2 second traverse transects were oriented parallel to STs of the first traverse transects. A distance of 20 m was maintained between STs, traverse transects, and ecotone. If needed, additional STs were sampled to examine the pasture center (purple rectangle). INRA© live-traps for small rodents and shrews were set at 1 m before each end of all STs

Fig. 2: Spatial distribution in the multivariate factorial space (principal components 1 and 2) of the *Ixodes ricinus* nymph abundance, on 4 sites of the Combrailles region of France, according to subtransect characteristics (see text). The graph shows the relative distance between subtransects in the factorial space according to landscape features. Symbols: ○ = 0 nymphs, * = 1 to 10 nymphs, ● = 11 to 228 nymphs

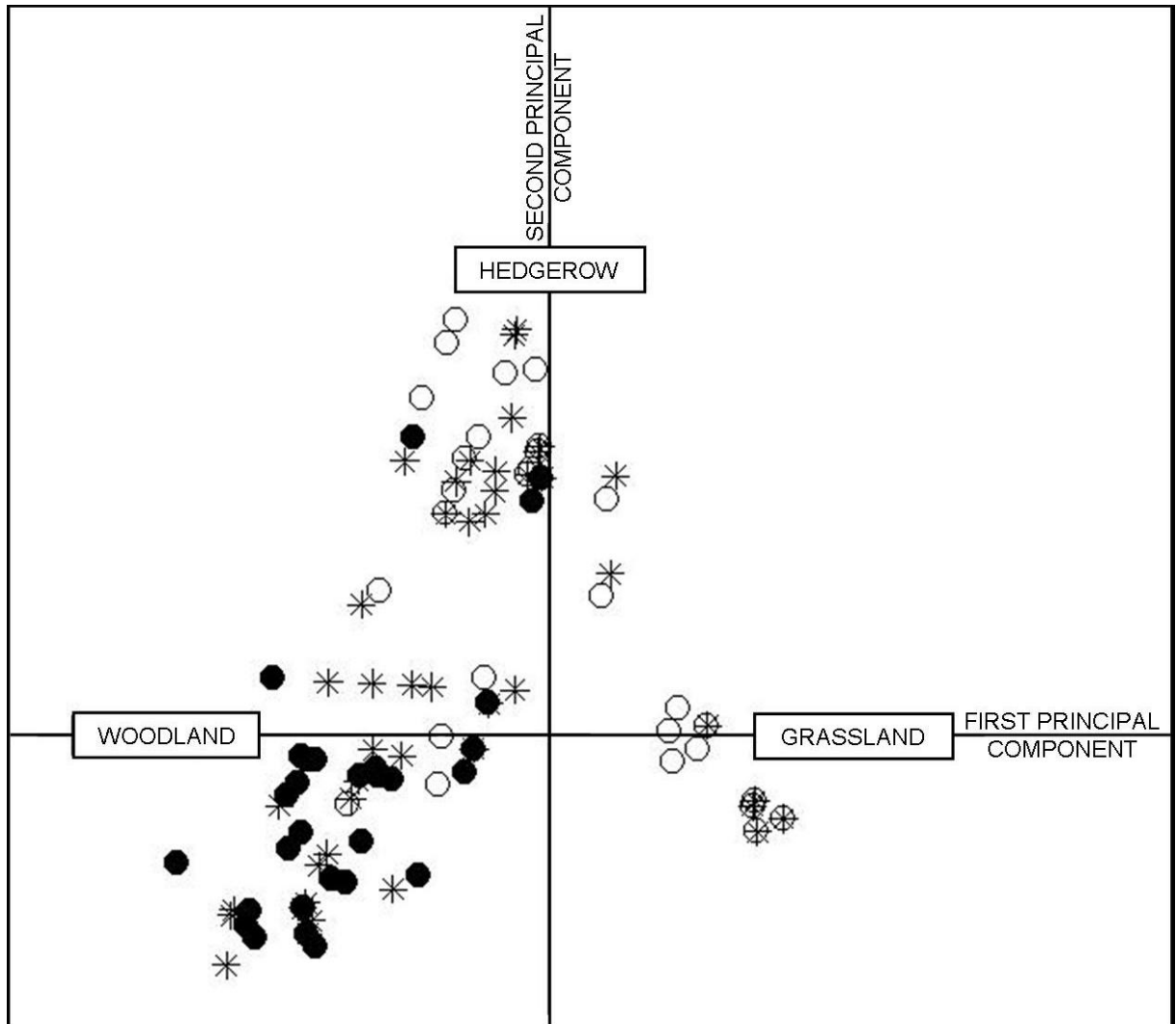
Fig. 3: Spatial distribution in the multivariate factorial space (principal components 1 and 2) of the small mammals captured on 4 sites of the Combrailles region, France, according to environmental variables (see text). The graph shows the inertia ellipses giving the relative distance between species according to landscape features. Species labels: *As* = *Apodemus sylvaticus*, *Af* = *Apodemus flavicollis*, *Mg* = *Myodes glareolus*, *Ma* = *Microtus arvalis*, *Cr* = *Crocidura russula*, *S* = *Sorex* spp

Fig. 4: Observed (white bars) and predicted (black bars) distributions of larval abundance on small mammals captured on 4 sites of the Combrailles region of France. The number of *Ixodes ricinus* larvae per small mammal was predicted by a negative binomial model adjusted with explanatory variables (Table 5)

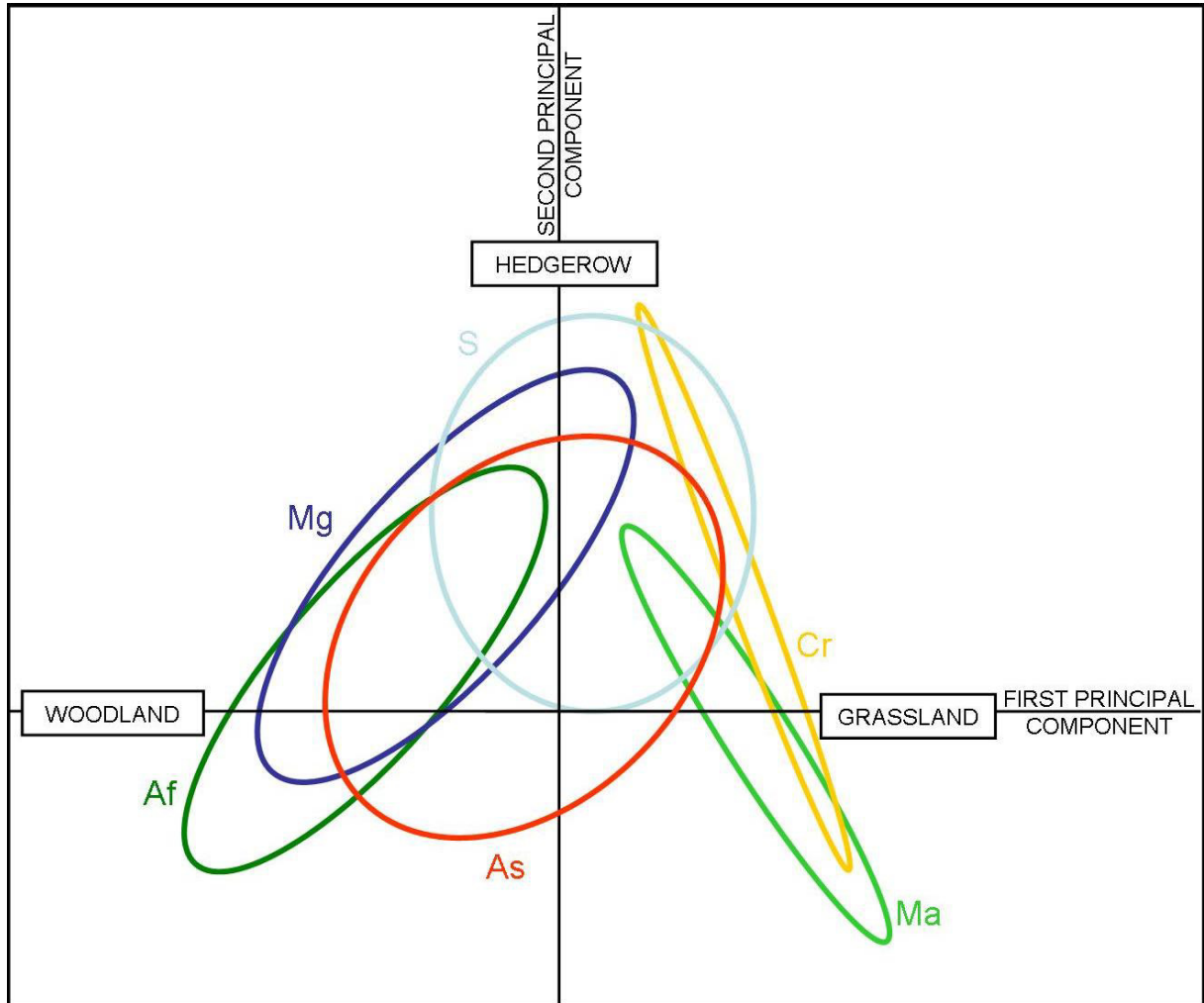
C. Boyard et al. *I. ricinus* at the woodland-pasture interface. Figure 1. (.jpg)
This figure was generated by ArcView in '.jpg' format.



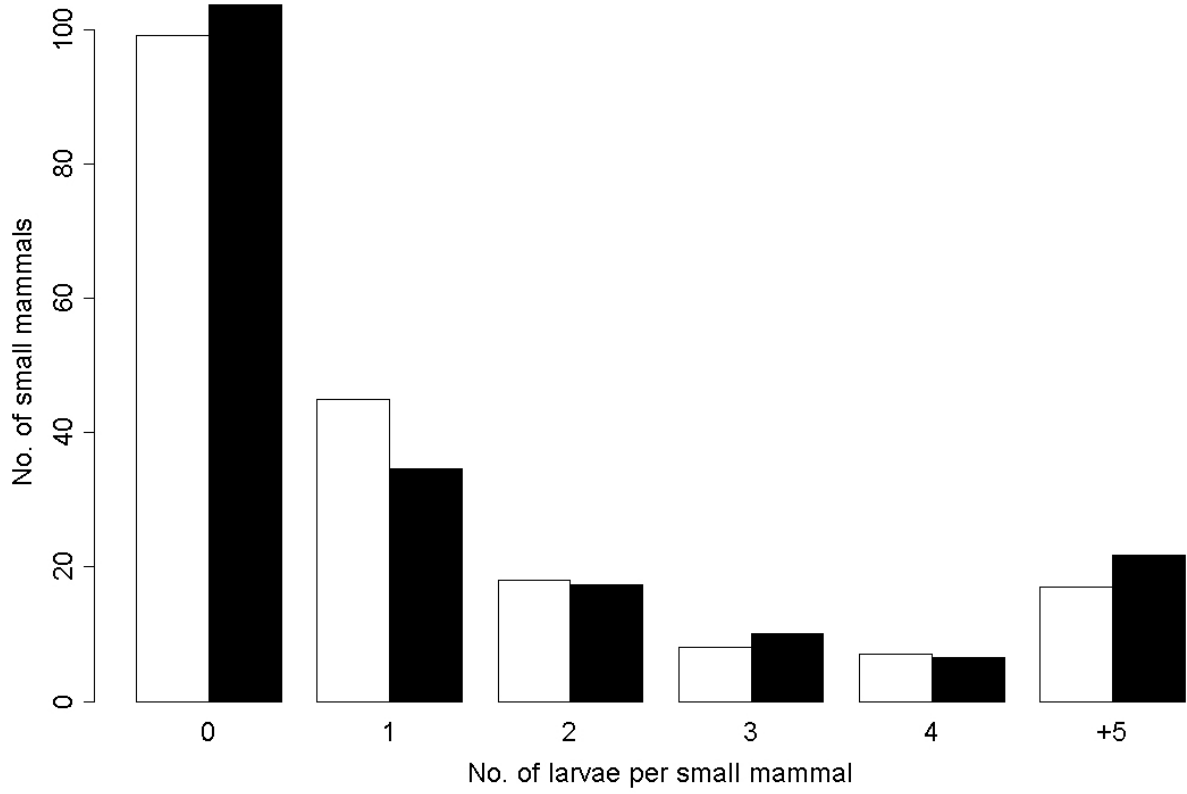
C. Boyard et al. *I. ricinus* at the woodland-pasture interface. Figure 2. (.jpg)
This figure was generated by R in '.jpg' format.



C. Boyard et al. *I. ricinus* at the woodland-pasture interface. Figure 3. (.jpg)
This figure was generated by R in '.jpg' format.



C. Boyard et al. *I. ricinus* at the woodland-pasture interface. Figure 4. (.jpg)
This figure was generated by R in '.jpg' format.



III.3 Espèces d'animaux vertébrés susceptibles d'être impliquées dans la circulation des tiques à l'interface bois-pâture :
Publication n°5

Vourc'h, G., Boyard, C. et Barnouin, J. (sous presse). Mammal and bird species distribution at the woodland-pasture interface in relation to the circulation of ticks and pathogens. *Annals of the New York Academy of Sciences*.

Résumé de la publication n°5 :

On rencontre la tique *I. ricinus* dans les milieux où les pâtures et les bois s'interpénètrent, en particulier dans les zones bocagères. Afin d'identifier les types d'espèces de mammifères et d'oiseaux susceptibles de transporter les tiques du bois vers la pâture, et inversement, nous avons observé durant l'année 2005 et 2007 l'ensemble des espèces sur quatre sites bocagers de la région des Combrailles (Auvergne, France). Au total, 58 espèces ont pu être observées. Vingt et une de ces espèces ont été retrouvées présentes au sein des trois habitats suivant : le milieu des pâtures, l'écotone bois-pâture et le milieu du bois. Le bocage étant un point de rencontre entre animaux sauvages, animaux domestiques et populations humaines, les espèces se présentant au sein de ces trois milieux peuvent être considérées comme des agents potentiels de la circulation d'*I. ricinus*, et donc des pathogènes qu'elle transporte. Ainsi, l'écotone bois-pâture peut-il être utilisé comme modèle de paysage dans l'étude des cycles épidémiologiques et de l'émergence des agents pathogènes via leur vectorisation par les tiques.

Mammal and bird species distribution at the woodland-pasture interface in relation to the circulation of ticks and pathogens

Gwenaël Vourc'h, Chloé Boyard and Jacques Barnouin
National Institute for Agricultural Research (INRA), UR346 Animal Epidemiology, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France.

Corresponding author: Gwenaël Vourc'h, INRA, UR346 Animal Epidemiology, F-63122 St Genès Champanelle, phone: +33 473 62 47 26, fax: +33 473 62 45 48, mail: gvourch@clermont.inra.fr

Abstract: The tick vector *Ixodes ricinus* can be found on pastures in landscapes where pasture and woodland intermix, such as in the 'bocage'. To identify which mammal or bird species could potentially transport ticks between woodland and pasture, we did a species inventory on four French 'bocage' sites in 2005. 58 species were observed, 21 of which were found in three different habitats: the middle of the pasture, the hedgerow/ecotone and the woodland. Because the bocage is a meeting point for wildlife, domestic animals and humans, species using the three habitats could potentially be epidemiological agents for circulation of tick vectors as well as of pathogens. Thus, the bocage could be used as a model landscape for the study of epidemiological cycles and potential emergence of multiple-host pathogens.

Keywords: woodland-pasture interface, species diversity, multiple-host pathogens, *Ixodes*

INTRODUCTION

The tick vector *Ixodes ricinus* is usually found in woodland habitats where it feeds on a large number of mammals and birds. This species is found on pastures along hedgerows in landscapes where pastures and woodlands intermix, in particular in the 'bocage' landscape (a French countryside including woodlands and pastures enclosed by hedgerows, earth banks or rows of trees). In such a landscape, the spillover of ticks from neighbouring woods is thought to be critical for the maintenance of tick populations on pastures.¹

The aim of our study was to identify which species use woodland, hedgerow/ecotone and the middle of the pasture, and thus could be responsible for the circulation of ticks between woodland and pasture in a French bocage. Such species could then be specifically studied for tick burden. Birds and medium and large mammal species in the different habitats were assessed through field observations. Small mammals were trapped in the three studied habitats.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in 4 sites (located at Dontreix: 46.0°N, 2.5°E; Bussières: 46.1°N, 2.6°E; Marcillat: 46.1°N, 3.0°E; and Le Quartier: 46.1°N, 2.7°E), belonging to commercial bovine farms of the Combrailles, a 'bocage' region of central France. Each site consisted of a permanent grazed pasture for cattle and the adjacent surrounding that included woodlands (see Boyard et al² for details).

Birds and medium and large mammals were inventoried by the 'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage' (ONCFS). On each site, the targeted pasture and a 500m buffer were screened during day sessions (July 2005) and day and night session (April and July 2007). A night observation session, which aimed to identify mammal species by flash light, was typically run by 2 people between 21:00-22:00 hrs. and 23:00-00:00 hrs. A day session started after sunrise, lasted 4 hours and was repeated during two consecutive days. Direct sighting and presence indices were reported (faeces, tracks, fraying, nest, burrow, etc) and the presence/absence of each species in the three habitats (middle of the pasture, hedgerow/ecotone or woodland) over all sites and all observation sessions were assessed. Only species that were observed more than once were considered. In addition, songbirds were reported using 15 minute point counts each morning. Small mammals were captured during 3 trapping sessions (24th-29th April, 5th-10th June, 18th-3rd September 2005) with baited INRA© traps, on 6 transects, 1 along the inner pasture perimeter, 1 along the outer pasture perimeter, and 4 traverse transects.² In the present paper, we report the percentage of individuals within species that were found in each habitat type.

RESULTS AND DISCUSSION

Altogether, 47 species were observed on the four sites more than once: 11 medium and large mammals, 29 birds (table 1) and 7 trapped small mammal species (figure 1). Species using the three habitats (11 mammals and 9 ground foraging birds) could be considered as potential facilitators of tick circulation between pasture and woodland. Among these species, all mammal species have been found to carry immature or mature stage of *I. ricinus*.³ The involvement of all bird species in the *I. ricinus* cycle has not been assessed, but many ground foraging birds are infested with *I. ricinus*.⁴

Species using different habitats can also favor the circulation of tick-borne pathogens. Many mammals and birds observed in this study have been identified as *Borrelia burgdorferi* sl reservoirs.⁵ In addition, *Apodemus sylvaticus* and *Capreolus capreolus* are known, for instance, to be reservoir host for *Anaplasma phagocytophilum*^{6,7} that is transmitted to domestic animals and humans via *I. ricinus*. Other mammals found in the three study habitats are well-known as reservoirs for multiple-host pathogens, in particular rabies (*Vulpes vulpes*), *Mycobacterium bovis* (*Meles meles*),⁸ and Classical Swine Fever (*Sus scrofa*).⁹ Many species of ground foraging birds have been found with *B. burgdorferi* infected ticks and migratory birds could be involved in long distance pathogen dispersal.⁴

A landscape such as the bocage represents an important environmental model to study potential emerging diseases because it represents a natural meeting point between wildlife, domestic animals and humans.¹⁰ The ability of a pathogen to infect multiple host species has been identified as a risk factor for emergence.¹¹ In addition, the bocage is likely to undergo modification due to changes in land use and agricultural practices. Such changes have been identified as one of the most important triggers of emerging zoonotic diseases.¹¹

Acknowledgments: We are thankful to the ONCFS staff for the bird and mammal inventory as well as for their useful comments on animal ecology.

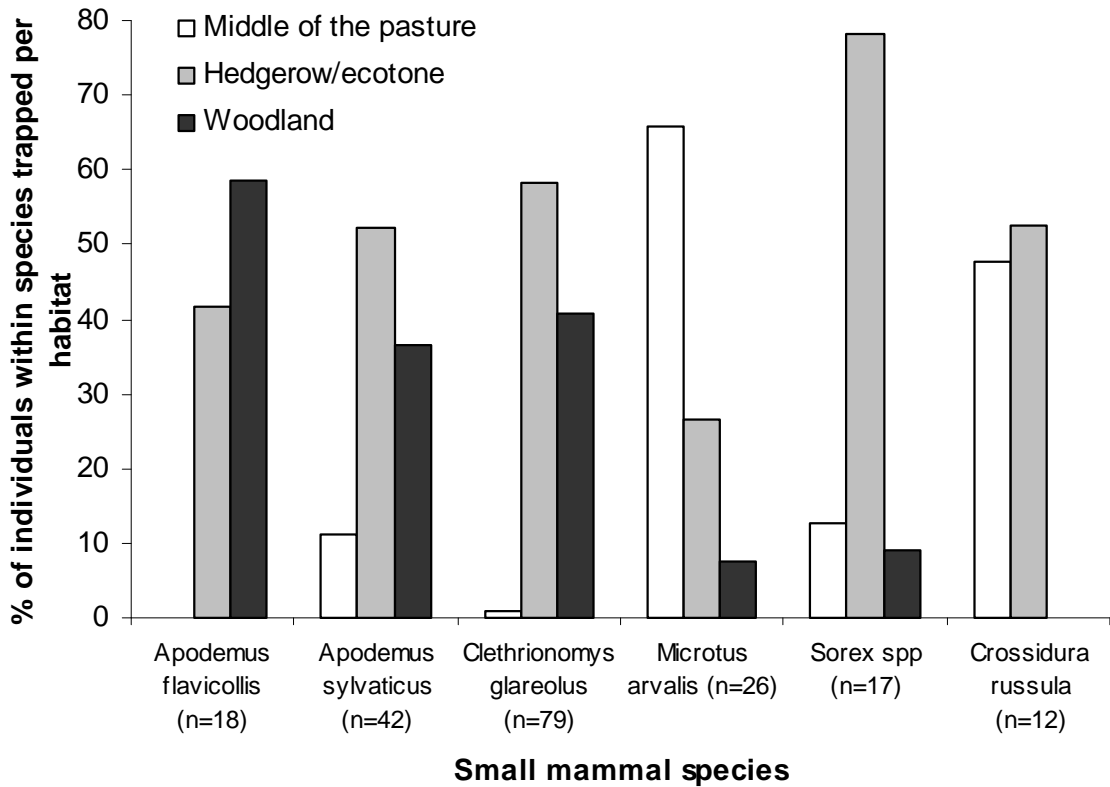
REFERENCES

1. Boyard, C., *et al.* 2007. Local environmental factors characterizing *Ixodes ricinus* nymph abundance in grazed permanent pastures for cattle. *Parasitology*. 134: 987-994.
2. Boyard, C., G. Vourc'h & J. Barnouin. submitted. The relationships between *Ixodes ricinus* and small mammal species at the woodland-pasture interface.
3. Aeschlimann, A. 1972. *Ixodes ricinus*, Linné, 1758 (*Ixodoidea* ; *Ixodidae*). Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. *Acta Trop.* 20: 321-339.
4. Comstedt, P., *et al.* 2006. Migratory passerine birds as reservoirs of Lyme borreliosis in Europe. *Emerg Infect Dis.* 12: 1087-1095.
5. Gern, L., *et al.* 1998. European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Zentralbl Bakteriol.* 287: 196-204.
6. Liz, J. S., *et al.* 2000. PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. *J. Clin. Microbiol.* 38: 1002-1007.
7. Woldehiwet, Z. 2006. *Anaplasma phagocytophilum* in ruminants in Europe. *Ann N Y Acad Sci.* 1078: 446-460.
8. Gallagher, J. & R. S. Clifton Hadley. 2000. Tuberculosis in badgers; a review of the disease and its significance for other animals. *Research in Veterinary Science.* 69: 203-217.
9. Kramer-Schadt, S., N. Fernandez & H. H. Thulke. 2007. Potential ecological and epidemiological factors affecting the persistence of classical swine fever in wild boar *Sus scrofa* populations. *Mammal Review.* 37: 1-20.
10. Despommier, D., B. R. Ellis & B. A. Wilcox. 2006. The role of ecotones in emerging infectious diseases. *Ecohealth.* 3: 281-289.
11. Woolhouse, M. E. J. & S. Gowtage-Sequeria. 2005. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerg Infect Dis.* 11: 1842-1847.

Table: Medium and large mammal and bird species observed in three habitats in a bocage landscape of the Combrailles (central France). MidPast= middle of the pasture, HedgEcot= hedgerow/ecotone, Woodl = woodland.

	Scientific name	Common name	MidPast	HedgEcot	Woodl
Medium and large mammals	<i>Capreolus capreolus</i>	Roe deer	x	x	x
	<i>Erinaceus sp</i>	Hedgehogs	x	x	x
	<i>Lepus europaeus</i>	Brown hare	x	x	x
	<i>Martes martes</i>	Marten	x	x	x
	<i>Meles meles</i>	Badger	x	x	x
	<i>Sus scrofa</i>	Wild boar	x	x	x
	<i>Vulpes vulpes</i>	Fox	x	x	x
	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Rabbit	x	x	
	<i>Mustela putorius</i>	European polecat	x		x
	<i>Sciurus vulgaris</i>	Red squirrel		x	x
	<i>Talpa europaea</i>	Mole	x		
	Ground foraging birds	<i>Buteo buteo</i>	Common buzzard	x	x
<i>Columba oenas</i>		Stock pigeon	x	x	x
<i>Columba palumbus</i>		Wood pigeon	x	x	x
<i>Corvus corone</i>		Carrion crow	x	x	x
<i>Fringilla coelebs</i>		Common chaffinch	x	x	x
<i>Garrulus glandarius</i>		Eurasian jay	x	x	x
<i>Picus viridis</i>		Green woodpecker	x	x	x
<i>Streptopelia turtur</i>		Turtle dove	x	x	x
<i>Strix aluco</i>		Tawny owl	x	x	x
<i>Alectoris rufa</i>		Red-legged partridge	x	x	
<i>Sturnus vulgaris</i>		European starling	x	x	
<i>Turdus merula</i>		Common blackbird	x	x	
<i>Cuculus canorus</i>		Common cuckoo		x	x
<i>Erithacus rubecula</i>		European robin		x	x
<i>Troglodytes troglodytes</i>		Winter wren		x	x
<i>Turdus philomelos</i>		Song thrush		x	x
<i>Turdus viscivorus</i>		Mistle thrush		x	x
<i>Alauda arvensis</i>		Eurasian skylark	x		
<i>Passer domesticus</i>		House sparrow		x	
<i>Streptopelia decaocto</i>		Eurasian collared-dove		x	
Other birds	<i>Emberiza citrinella</i>	Yellowhammer	x	x	
	<i>Aegithalos caudatus</i>	Long-tailed tit		x	x
	<i>Oriolus oriolus</i>	Golden oriole		x	x
	<i>Parus major</i>	Great tit		x	x
	<i>Phylloscopus collybita</i>	Chiffchaff		x	x
	<i>Sylvia atricapilla</i>	Blackcap		x	x
	<i>Hirundo rustica</i>	Barn swallow	x		
	<i>Dendrocopos major</i>	Great spotted woodpecker			x
	<i>Sitta europaea</i>	Eurasian nuthatch			x

Figure 1. Percentages of individuals within small mammal species that were trapped in the three different habitats in 2005 on 4 sites of the Combrailles region, France. Within each habitat, the number of trapped individuals was weighted by the trapping effort, i.e. the number of trap-nights realized, corrected by a factor of 0.5 if the trap was shut without capture.



Conclusion et perspectives

Les études d'éco-épidémiologie que nous avons conduites se placent dans une logique de connaissance et de pertinence – dans un cadre spatio-écologique modèle – des facteurs d'abondance de la tique *Ixodes ricinus*, en tant que vecteur d'un ensemble d'agents zoonotiques reliés à des priorités de santé publique. En effet, sur les 37 zoonoses non-alimentaires dont la surveillance fait partie des priorités définies pour la France en 2006 par l'Institut National de Veille Sanitaire (InVS, Tableau 11), huit sont transmises par des tiques de manière unique, principale ou secondaire. En ce qui concerne spécifiquement *I. ricinus*, cette espèce est impliquée dans sept de ces maladies, dont l'une, la maladie de Lyme, fait partie des 11 zoonoses dont le contrôle est jugé très prioritaire en France (Capek, 2006).

Tableau 11 : Classement des zoonoses non alimentaires en maladies prioritaires, importantes et non prioritaires (d'après Capek, 2006).

En gras : maladies transmises par *Ixodes ricinus*.

Prioritaires	Importantes	Peu importantes
Brucellose	Charbon	Ankylostomiase
Echinococcose alvéolaire	Encéphalite à tiques	Babésiose
Grippe	Fièvre Q	Cryptococcose
Hydatidose	Hantavirus (FHSR)	Dermatite cercarienne
Leptospirose	Leishmaniose viscérale	Dirofilariose
Maladie de Lyme	Pasteurellose	Ebola
Mycobactérioses	<i>Streptococcus suis</i>	Ecthyma contagieux
Psittacose	Toxocarose	Anaplasmose granulocytaire [Ehrlichiose]
Rage	Tularémie	Encéphalomyélite ovine
Toxoplasmose		Fièvre boutonnière méditerranéenne
Virus West Nile		Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses
		Leishmaniose cutanée
		Maladie des griffes du chat
		Mélioïdose
		Rouget du porc
		Teigne
		Typhus exanthématique

La démarche scientifique sous-tendue par nos travaux est donc celle de la modélisation éco-épidémiologique des risques infectieux liés aux capacités de vectorisation de la tique *I. ricinus*. Un tel objectif scientifique implique divers niveaux

d'analyse via des zones d'étude-modèles jugées représentatives des chaînes épidémiologiques aboutissant au risque infectieux chez l'Homme et les animaux d'élevage.

Le premier niveau d'analyse du rôle épidémiologique d'*I. ricinus*, celui sur lequel est centré le présent travail, concerne les facteurs d'abondance de la tique dans l'environnement. Les zones d'étude-modèles, cadres des études éco-épidémiologiques dont nous avons présenté les résultats, ont plusieurs caractéristiques favorables. D'abord, ce sont des régions où le risque de morsure et d'infection par *I. ricinus* est considéré comme endémique (Arzouni, 1990 ; Dabertrand, 2003). Ensuite, ces zones (Combrailles et Ouest Cantal) sont situées dans le centre de la France, dans de petites régions agricoles à l'environnement préservé, éloignées des centres urbains et relativement peu impliquées par les grands axes de circulation, caractéristiques incluant une bonne stabilité écologique et une indépendance vis-à-vis d'éventuels effets de bordure. Enfin, les sites sur lesquels nous avons travaillé sont pleinement compatibles avec leur étude scientifique, étant donné leur relative proximité avec le centre de recherche, en l'occurrence le centre INRA de Clermont-Ferrand-Theix, qui abrite l'unité de recherche d'Epidémiologie Animale qui a accueilli cette thèse.

Les principales conclusions auxquelles nos études ont abouti sont les suivantes :

- 1) Nous confirmons l'attrait d'*I. ricinus* pour le biotope boisé et élargissons le champ d'étude aux pâtures, qui, proches d'une végétation boisée ou broussailleuse, sont également des lieux importants de développement de cette espèce.
- 2) Le mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*) peut jouer le rôle de « pont épidémiologique » entre les bois et les pâtures. Les échanges entre bois et pâtures apparaissent nécessaires pour le maintien des populations de tiques au niveau de la pâture.

Nos résultats ouvrent un ensemble de questions plus ou moins inter-reliées, qui concernent le site d'étude, le niveau d'échelle des études, l'amélioration des modèles, la dynamique des hôtes, le rapport avec les agents pathogènes et les interactions génétique-environnement.

✱ *Le système hôte-I. ricinus-agent pathogène à l'écotone bois-pâturage : un concept d'étude à privilégier ?*

Dans le cadre de l'étude des maladies émergentes, le système hôte-*I. ricinus*-agent pathogène peut apporter des connaissances sur les systèmes multi-pathogènes et sur le passage de la barrière d'espèces. D'une part, *I. ricinus* hébergeant plusieurs germes simultanément, on peut imaginer que des interactions entre ces germes peuvent survenir et modifier leur pathogénicité et/ou leur transmissibilité, bien que cela n'ait pas encore été mis en évidence (Levin et Fish, 2000). D'autre part, la tique *I. ricinus* se nourrissant sur plusieurs espèces d'hôtes, on peut la considérer comme une force favorisant les agents pathogènes généralistes ou stimulant le passage de barrière d'espèce de germes spécialistes, ce qui peut entraîner l'émergence de maladies. On peut remarquer qu'*I. ricinus* est le vecteur d'agents pathogènes qui semblent assez spécialisés (ex. : *Borrelia garinii* chez les oiseaux) indiquant qu'il existe des forces suffisamment importantes pour maintenir la spécialisation. Par ailleurs, il est possible qu'une spécialisation du

vecteur soit en train de se produire sur certains hôtes à l'instar d'*I. uriae* (McCoy *et al.*, 2005).

La dissémination des agents pathogènes parmi les différentes espèces d'hôtes requiert que ces espèces soient sympatriques, qu'elles utilisent les mêmes lieux de vie. Cette condition est favorisée par l'imbrication de différents écosystèmes dont les frontières forment les écotones tels les lisières de bois et les haies (Arthur, 1973). En plus de multiplier les interactions interspécifiques, les écotones semblent concentrer et intensifier les facteurs biophysiques, l'activité biologique et les processus évolutifs et écologiques. Il en résulte qu'ils sont impliqués dans l'émergence de maladies infectieuses en particulier zoonotiques et vectorielles. On peut citer le cas de l'écotone forêt-savane pour le virus Ebola, ou de l'écotone entre milieu terrestre et milieu aquatique pour ce qui concerne la leptospirose. Les écotones représentent donc un milieu a priori stratégique pour la surveillance des apparitions ou des transferts d'agents pathogènes, à l'origine des phénomènes d'émergence de maladies (Despommier *et al.*, 2007). Les paysages de bocage présentent de nombreux écotones bois-pâture qui sont des lieux de fréquentation pour la faune sauvage, les animaux domestiques et l'Homme (Cleaveland *et al.*, 2001). Ce type d'écotone abrite par ailleurs des populations de rongeurs importantes, qui constituent des réservoirs de nombreux agents pathogènes (Clement et Van Ranst, 2000). Bien que les populations de tiques ne se bornent pas à l'écotone bois-pâture et que la circulation des pathogènes se joue au sein d'un domaine plus vaste, l'écotone bois-pâture est particulièrement intéressant à considérer, en vue d'une meilleure connaissance des facteurs de risque liés à la vectorisation d'agents pathogène par les tiques.

L'écotone bois-pâture est également la cible des changements agricoles (Baudry et Jouin, 2003). En France, l'évolution des exploitations agricoles tend à la fois à la constitution de troupeaux de plus grande taille, à une utilisation des prairies plus répandue et plus longue, à un nombre moindre de rotations des troupeaux sur les pâtures et à une raréfaction relative de la main d'œuvre disponible. Ces évolutions concourent notamment à limiter l'entretien des pâtures et à favoriser la formation d'espaces envahis par les bois et les broussailles, et à ce titre favorables à *I. ricinus*. Ces espaces sont également propices aux animaux sauvages, et notamment au chevreuil, qui est un hôte particulièrement important pour l'implantation et le maintien des populations d'*I. ricinus* (L'Hostis et Seegers, 2002).

En matière de risque, les maladies transmises par les tiques pourraient trouver à l'écotone bois-pâture un terrain favorable pour se développer, les principales populations cibles étant, pour ce qui concerne l'Homme, les personnes liées aux métiers de l'élevage et de la forêt, ainsi que les pratiquants d'activités « nature » (promenade, ramassage de champignons). En ce qui concerne les animaux d'élevage, les risques concernent surtout les bovins, mais aussi les équidés et les ovins.

* Quel niveau d'échelle pour l'étude des facteurs d'abondance ?

Etudier le risque de transmission d'agents pathogènes par les tiques est une question déclinable à diverses échelles géographiques : veut-on en effet étudier le risque sur l'ensemble d'un continent ? D'un pays ? D'une région ? D'une pâture ? La réponse à une telle interrogation dépend notamment de la stratégie que l'on poursuit, des données

disponibles, du type de risque et des outils d'étude que l'on maîtrise, outils qui peuvent différer selon le niveau d'échelle que l'on privilégie.

Notre objectif était d'étudier au premier chef le risque pour les bovins en relation avec le risque pour l'Homme. Afin d'être au plus près des origines de ce risque, nous nous sommes focalisés sur une composante du risque acarologique, les densités de tiques, à l'échelle d'une pâture et de son proche alentour. Ce risque représente un risque structurel pour les bovins fréquentant les pâtures, et un risque conjoncturel pour l'Homme, en fonction de son mode de fréquentation du milieu prairial. Pour évaluer les conditions de ces risques, nous nous sommes focalisé sur les pâtures de deux régions d'élevage bovin présentant une bonne stabilité écologique. Dans ces régions, nous avons mis en œuvre une méthodologie permettant d'obtenir une vue représentative, ainsi que relativement précise et diversifiée, des variables impliquées dans la variation d'abondance de tiques, en privilégiant une approche quantitative basée sur le comptage du nombre de nymphes à l'affût dans des couples bois-pâtures.

La généralisation de nos résultats requiert la plus grande prudence, car la diversité des environnements rencontrés engendre des dépendances entre des variables pouvant en conséquence influencer sur l'habitat des tiques de façon diversifiée d'une région à l'autre. Nous avons constaté, lors de la confrontation du modèle établi sur les données « Combrailles 2003 » avec des données relevées une autre année dans le Cantal, que certaines variables n'étaient plus aussi clairement explicatives, en partie sans doute pour des raisons tenant à la façon dont nous les avons prises en compte. D'autres variables, au contraire, conservaient une influence forte. Ceci associé au fait qu'elles sont en cohérence avec les résultats d'autres études européennes (Aeschlimann, 1981 ; Gray *et al.*, 1998 ; Randolph, 2005), elles ont sans-doute une portée assez générale.

Aux Etats-Unis, la relation entre le risque acarologique et l'incidence des maladies a été étudiée via la quantité d'interface bois-prairie herbacée (surtout la maladie de Lyme, Carroll *et al.*, 1992 ; Duffy *et al.*, 1994 ; Kitron et Kazmierczak, 1997 ; Pardani et Mather, 2004 ; Jackson *et al.*, 2006). En effet la quantité d'écotone boisé augmente avec la fragmentation des forêts qui, à son tour, favorise le réservoir principal de la maladie de Lyme aux USA, la souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*) (Wilder *et al.*, 2005). Au final, l'incidence de la maladie de Lyme et la quantité d'interface bois-prairie ne sont pas toujours corrélées, sans doute parce qu'entre ces deux variables, il manque une mesure de la fréquentation des écotones par l'Homme. Ceci illustre la difficulté de lier des phénomènes dont les processus se déroulent à des échelles différentes.

L'échelle de la pâture convient parfaitement pour définir un risque de transmission d'agents pathogènes des tiques vers les bovins. En revanche, les très fortes abondances de nymphes observées sur quelques tranches ne sont pas expliquées par les facteurs inclus dans les modèles. Ces valeurs extrêmes doivent correspondre à des endroits éminemment favorables à *I. ricinus* et/ou des endroits où beaucoup de nymphes se détachent des hôtes. Nous n'avons pas détecté de caractéristiques, notamment du paysage, permettant de les identifier. Le fait de ne pas pouvoir expliquer les fortes abondances via les modèles utilisés peut correspondre à des phénomènes micro-locaux – liés au comportement particulier de certains hôtes, ou de caractéristiques environnementales – qui nous échappent. Il faudrait sans doute descendre au niveau de précision de la « tranche », non seulement pour les variables telles que la présence de cerisiers, de pommiers ou d'autres facteurs favorisant la venue des hôtes, mais aussi

pour les conditions météorologiques sévissant à hauteur du sol, voire pour les déplacements des hôtes directement. Le niveau de précision de certaines variables a été amélioré d'année en année, mais n'a pas encore été pris en compte dans l'analyse des derniers jeux de données (pour 2006, les variables mesurées au niveau de la tranche concernent, en plus de celles de 2003 : les arbres fruitiers, la pente du terrain, la connexion avec le bois, la hauteur de la haie, la couverture végétale surplombant la tranche).

✱ Comment améliorer les modèles ?

La sélection des covariables incluses dans les modèles aurait pu être effectuée de façon à privilégier les valeurs extrêmes. En effet, la sélection des covariables pâtures a été réalisée en relation avec les densités moyennes de nymphes *I. ricinus*. Au lieu de privilégier la moyenne, nous aurions pu, par exemple, baser nos calculs sur le nombre maximum de nymphes *I. ricinus* observé sur une tranche au sein de chaque pâture, si l'on avait étudié le même nombre de tranches dans toutes les parcelles étudiées, ou bien la densité de nymphes sur les cinq tranches les plus fortes. Une autre piste à envisager pourrait être d'utiliser l'intégralité des données, en basant l'analyse statistique sur des méthodes d'arbres de classification (Sylvie Huet, Unité de Biométrie, INRA de Jouy-en-Josas, commentaires personnels). L'avantage de cette méthode est qu'un grand nombre de covariables peut être analysé en même temps, et que les variables quantitatives n'ont pas besoin d'être catégorisées. Cependant, comme les arbres supposent, en pratique, un modèle de régression linéaire (les autres types de régression ne sont pas encore courants dans les logiciels de statistiques), il est nécessaire de linéariser le nombre de nymphes par tranches, ce qui n'est pas toujours possible.

Dans la modélisation du nombre de tiques, que celles-ci soient à l'affût ou sur les hôtes, le choix de la loi de distribution doit tenir compte de la question de l'agrégation. La répartition des tiques, comme celle de beaucoup d'autres espèces (Taylor, 1961), est en effet spatialement agrégée, même sur des surfaces homogènes du point de vue du micro-habitat (c'est-à-dire des conditions climatiques et de végétation). Les raisons de l'agrégation peuvent être liées à des processus complexes, à l'origine des variations de l'abondance dans l'espace et dans le temps, qui sont extrêmement sujets à la variabilité des réponses inter-individuelles des tiques (Gigon, 1985). L'aléa, intervenant à tous les niveaux du cycle d'*I. ricinus*, permet de surmonter la variabilité de l'environnement auquel la tique est confrontée. Cette variabilité assure une certaine stabilité des populations du vecteur. Dans ce contexte, la mise en œuvre de la loi binomiale négative apparaît une bonne solution dans le but de lisser toute la complexité qui apparaît (ou que l'on ne sait pas discerner) au niveau de l'abondance d'*I. ricinus* (Wilson *et al.*, 2001). Cependant, plusieurs questions restent en suspens : l'agrégation est-elle toujours visible si l'on augmente la taille de l'unité de surface servant à comptabiliser les tiques ? Est-ce que les phénomènes agrégatifs sont toujours visibles si l'on s'intéresse à des petits nombres de tiques, par exemple, si l'on a pour objectif de modéliser la répartition des adultes ? A-t-on la même loi de distribution pour les larves ? Pourrait-on aboutir à une modélisation mécaniste portant sur l'ensemble de la dynamique des stases et des sexes au sein d'un espace de référence pour être à même de porter un jugement sur la capacité épidémiologique de l'ensemble de cette population ? Comme on le voit, la modélisation de la répartition des tiques reste une question à la fois très ouverte et passionnante.

✱ *Comment prendre en compte la variété et la dynamique des animaux hôtes ?*

Les hôtes sont la partie cachée de notre système. Leurs déplacements et la qualité du gorgement obtenu sont cruciaux pour expliquer la répartition des tiques. Par exemple, les bovins sont sans doute gages d'un bon repas, mais si la tique gorgée se détache en pleine pâture, c'est-à-dire là où les bovins passent le plus clair de leur temps, elle aura peut-être plus de mal à survivre. Lorsqu'on cherche à expliquer le nombre de tiques à l'affût, on étudie indirectement le dépôt des tiques gorgées par les hôtes. L'étude du rôle des « grands hôtes » (bovins, chevreuils, etc.) dans la circulation des tiques est nettement plus délicate que celles des micromammifères en raison de la difficulté de collecter les tiques sur les individus, notamment les larves et les nymphes, de la lourdeur des protocoles de captures et des difficultés d'estimation de l'utilisation de l'espace. Cependant, la mise au point de technique de biologie moléculaire permettant de connaître sur quels animaux les tiques collectées à l'affût se sont gorgées à la stase précédente (Kirstein et Gray, 1996 ; Humair *et al.*, 2007) ouvrent des perspectives très intéressantes. On peut envisager d'établir des profils d'espèces hôtes que parasite *I. ricinus* dans une zone ; ainsi, une étude de Pichon *et al.* (2005) a montré qu'en Irlande, où des nymphes *I. ricinus* ont été collectées au drapeau, 47,7% de ces nymphes s'étaient nourries – en tant que larves – sur des oiseaux, 38,4% sur des ruminants et 5% sur des rongeurs. En Espagne, les oiseaux semblent également être plus appréciés des larves que les rongeurs (Estrada-Peña *et al.*, 2005). Dans l'absolu, la technique biomoléculaire est une avancée importante car elle permet de s'affranchir des biais d'observation inhérents aux protocoles concernant l'étude des déplacements des animaux hôtes. Néanmoins, la technique biomoléculaire pourrait présenter d'autres biais tels qu'une sensibilité différente selon l'espèce de l'animal hôte.

✱ *Comment effectuer le lien entre facteurs d'abondance des tiques et portage d'agents pathogènes ?*

Les facteurs du risque acarologique (densité de nymphes infectées) sont la combinaison des facteurs influençant la densité de nymphes dans l'environnement et de ceux influençant le portage d'agents pathogènes par ces nymphes qui ne sont pas forcément identiques. Pour certains agents pathogènes, le risque acarologique apparaît corrélé positivement à la densité de tiques dans l'environnement. Il semble que ce soit le cas pour *Borrelia burgdorferi* s.l. (Gray *et al.*, 1998), car les hôtes réservoirs sont ubiquistes et l'aire de répartition de l'agent pathogène correspond à celle de la tique.

Les tiques *I. ricinus* prélevées en 2003 dans les Combrailles ont fait l'objet d'une détection d'ADN de *Borrelia burgdorferi* s.l., d'*Anaplasma phagocytophilum* et de *Rickettsia* sp. du Groupe Boutonneux (principalement *Rickettsia helvetica*). Les résultats sont en cours d'analyse par une modélisation probabiliste des taux de portage. Les premiers résultats indiquent que les adultes sont plus infectés que les nymphes pour les trois bactéries. En revanche, la différence de taux de portage entre les adultes mâles et femelles *I. ricinus* ne semble détectable que pour *B. burgdorferi* s.l., les femelles apparaissant plus infectées. De même, dans le cas de *B. burgdorferi* s.l., les tiques des bois sont plus infectées que celles des pâtures, alors qu'il n'y a pas de différence significative de taux d'infection au niveau des deux autres bactéries étudiées.

En ce qui concerne la détection des bactéries portées par les tiques, des techniques basées sur les signatures moléculaires ont été testées dans le but de pouvoir établir des profils de germes bactériens pouvant être à la fois pathogènes, commensaux des tiques ou avec un rôle inconnu (Halos, 2005). Ces techniques requièrent encore un certain nombre d'améliorations, notamment l'automatisation et une identification plus discriminante. Dans l'absolu, les techniques aboutissant à définir des profils de bactéries transportées pourraient être étendues aux virus et aux protozoaires, mais les obstacles techniques pour y aboutir sont nombreux. Idéalement, couplées aux techniques précédemment évoquées analysant les restes de repas sanguins des tiques, il pourrait être envisageable de relier différents habitats caractéristiques à un profil (liste) d'espèces hôtes des tiques et une liste des agents pathogènes transportés. On entrerait alors dans l'analyse du croisement des communautés microbiennes, des communautés d'animaux supérieurs, et des habitats, qui nécessite une approche biostatistique particulière.

✱ *Quels apports de la génétique des populations de tiques à notre problématique ?*

Les études que nous avons conduites, qui correspondent à une première étape de travail, n'ont pas pris en compte la génétique des populations de tiques. En quoi il serait intéressant et possible de revisiter nos conclusions à la lumière de l'analyse génétique ?

La génétique des populations de tiques *Ixodes ricinus* a peiné à se développer en raison des difficultés rencontrées dans l'identification de marqueurs pertinents, c'est-à-dire neutres vis-à-vis de la sélection naturelle et variables (de Meeûs *et al.*, 2004 ; Røed *et al.*, 2006). Cependant, certaines études indiquent un niveau assez important de variation intraspécifique (Paulauskas *et al.*, in press). Il est sans doute envisageable de penser que des marqueurs pertinents seront prochainement disponibles pour étudier la variabilité intraspécifique à l'échelle régionale ou locale. La génétique des populations abordée avec une composante spatiale (« landscape genetics ») permet de quantifier l'influence du paysage sur les variations génétiques. De ce fait, cette approche pourrait amener des éclairages intéressants concernant le risque en identifiant des barrières de flux de gènes, des processus de sélection liés à l'espace, des dynamiques puits-source entre deux types d'habitat et en précisant l'échelle spatiale et temporelle de processus biologiques (Storfer *et al.*, 2007).

Références

- Aeschlimann, A.** (1972). *Ixodes ricinus*, Linné, 1758 (*Ixodoidea; Ixodidae*). Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. *Acta Tropica* **20**, 321-340.
- Aeschlimann, A.** (1981). The role of hosts and environment in the natural dissemination of ticks. Studies on a Swiss population of *Ixodes ricinus* L., 1758. *Review of advances in parasitology*, 859-869.
- Aeschlimann, A., Burgdorfer, W., Matile, H., Peter, O. et Wyler, R.** (1979). Aspects nouveaux du rôle de vecteur joué par *Ixodes ricinus* L. en Suisse. Note préliminaire. *Acta Tropica* **36**, 181-191.
- Arthur, D.R.** (1973). Host and tick relationships: a review. *Journal of Wildlife Diseases* **9**, 74-84.
- Arzouni, J.-P.** (1990). *Une enquête séro-épidémiologique dans le Puy-de-Dôme, à propos de trois maladies transmissibles par les tiques: la maladie de Lyme, la fièvre boutonneuse méditerranéenne, la fièvre Q.* Doctorat en médecine. Université Clermont-Ferrand I, France, 161 p.
- Arzouni, J.-P., Laveran, M., Beytout, J., Ramousse, O. et Raoult, D.** (1993). Comparison of western blot and microimmunofluorescence as tools for Lyme disease seroepidemiology. *European Journal of Epidemiology* **9**(3), 269-273.
- Augé-Sabatier, A.** (2005). *Enquête rétrospective des maladies transmises par les tiques dans la région des Combrailles: analyse descriptive.* Stage de master BGAE (Université Montpellier II). Clermont-Ferrand: Institut National de Recherche Agronomique, 11 p.
- Baudry, J. et Jouin, A.** (2003). *De la haie aux bocages. Organisation, dynamique et gestion*, Paris: INRA, 435 p.
- Belozеров, V.N., Fourie, L.J. et Kok, D.J.** (2002). Photoperiodic control of developmental diapause in nymphs of prostriate ixodid ticks (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology* **28**, 163-168.
- Beytout, J., George, J.C., Malaval, J., Garnier, M., Beytout, M., Baranton, G., Ferquel, E. et Postic, D.** (2007). Lyme borreliosis incidence in two French departments: correlation with infection of *Ixodes ricinus* ticks by *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Vector borne and zoonotic diseases* **7**(4), 507-518. doi: 10.1089/vbz.2006.0633.
- Black, W.C. et Piesman, J.** (1994). Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 10034-10038.
- Blanco, J.R. et Oteo, J.A.** (2002). Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* **8**(12), 763-772.
- Boulinier, T., Ives, A.R. et Danchin, E.** (1996). Measuring aggregation of parasites at different host population levels. *Parasitology* **112**, 581-587.
- Bourdoiseau, G. et L'Hostis, M.** (1995). Les babésioses bovines. *Le point vétérinaire* **27**(168), 125-131.

- Boyard, C., Barnouin, J., Gasqui, P. et Vourc'h, G.** (2007a). Local environmental factors characterizing *Ixodes ricinus* nymph abundance in grazed permanent pastures for cattle. *Parasitology* **134**, 987-994.
doi:10.1017/S0031182007002351.
- Boyard, C., Gasqui, P., Barnouin, J. et Vourc'h, G.** (2007b). Comment diminuer le risque de maladies transmises par les tiques chez les bovins au pâturage? *Bulletin des GTV* **41**, 101-106.
- Boyard, C., Vourc'h, G. et Barnouin, J.** (sous presse). The relationships between *Ixodes ricinus* and small mammal species at the woodland-pasture interface, *Experimental and Applied Acarology*.
- Brouqui, P., Sanogo, Y.O., Caruso, G., Merola, F. et Raoult, D.** (2003). *Candidatus Ehrlichia walkerii*. A new *Ehrlichia* detected in *Ixodes ricinus* tick collected from asymptomatic humans in Northern Italy. *Annals of the New York Academy of Sciences* **990**, 134-140.
- Brownstein, J.S., Holford, T. et Fish, D.** (2003). A climate-based model predicts the spatial distribution of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in the United States. *Environmental Health Perspectives* **111**(9), 1152-1157.
- Brownstein, J.S., Skelly, D.K., Holford, T.R. et Fish, D.** (2005). Forest fragmentation predicts local scale heterogeneity of Lyme disease risk. *Oecologia* **146**, 469-475.
doi: 10.1007/s00442-005-0251-9.
- Brun, I.** (2000). *Les maladies transmissibles par les tiques: d'après l'expérience Auvergnate*. Doctorat en médecine. Université Clermont-Ferrand I, 180 p.
- Bunnell, J.E., Price, S.D., Das, A., Shield, T.M. et Glass, G.E.** (2003). Geographic information system and spatial analysis of adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the middle atlantic region of the U.S.A. *Journal of Medical Entomology* **40**(4), 570-576.
- Cameron, A.C. et Trivedi, P.K.** (1998). *Regression analysis of count data*, Cambridge: Cambridge University Press, 412 p.
- Camicas, J.-L.** (1978). Tiques et arbovirus (revue bibliographique). *Cah. O.R.S.T.O.M. sdr. Ent. méd. et Parasitol.* **16**(2), 165-180.
- Camicas, J.-L., Hervy, J.-P., Adam, F. et Morel, P.-C.** (1998). *The ticks of the world*, Orston Edition edn.
- Campbell, J.A.** (1948). *The life history and development of the sheep tick Ixodes ricinus linnaeus in Scotland, under natural and controlled conditions*. Thesis. University of Edinburgh.
- Capek, I.** (2006). Définition de priorités et actions réalisées dans le domaine des zoonoses non alimentaires, 2000-2005. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire* **27-28**, 196-199.
- Carroll, M.M., Ginsberg, H.S., Hyland, K.E. et Hu, R.** (1992). Distribution of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in residential lawns on Prudence Island, Rhode Island. *Journal of Medical Entomology* **29**(6), 1052-1055.

- Chastel, C.** (2007). *Maladies liées à la morsure des tiques en France*. [En ligne] <http://www.maladies-a-tiques.com/>, Dernier accès: 22/10/2007.
- Chastel, C. et Camicas, J.-L.** (1984). Arbovirus transmis par les tiques et pathogènes pour l'homme ou pour des animaux domestiques. *Bulletin de la Société Entomologique de France* **89**, 775-794.
- Chastel, C., Laroche, C., Parodi, A.-L., Pilet, C., Binet, J.-P., Euzéby, J., Blancher, G., Pene, P. et Le Minor, L.** (1998). Erve et Eyach : deux virus isolés en France, neuropathogènes chez l'homme et à diffusion ouest-européenne. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine* **182**(4), 801-810.
- Cleaveland, S., Laurenson, M.K. et Taylor, L.H.** (2001). Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **356**, 991-999. doi: 10.1098/rstb.2001.0889.
- Clement, J.P. et Van Ranst, M.** (2000). The role of rodents in emerging and re-emerging human infections. *The Infectious Disease Review - Microbes of Man, Animals and the Environment* **2**(2), 84-87.
- Combes, C.** (2001). *L'art d'être parasite*, Paris: Flammarion, 362 p.
- Comstedt, P., Bergstrom, S., Olsen, B., Garpmo, U., Marjavaara, L., Mejlom, H., Barbour, A.G. et Bunikis, J.** (2006). Migratory passerine birds as reservoirs of Lyme borreliosis in Europe. *Emerging Infectious Diseases* **12**(7), 1087-1095.
- Cressie, N.A.C.** (1993). *Statistics for spatial data revised edition*, New York: John Wiley and Sons, Inc., 900 p.
- Dabertrand, C.** (2003). *La maladie de Lyme, maladie émergente. Enquête épidémiologique dans le Cantal et la Haute Corrèze*. Thèse de Doctorat en Médecine. Clermont-Ferrand (France): Université de Clermont-Ferrand I, 97 p.
- Daniel, M., Cerny, V., Dusbabek, F., Honzakova, E. et Olejnicek, J.** (1976). Influence of microclimate on the life cycle of the common tick *Ixodes ricinus* (L.) in the thermophilic oak forest. *Folia parasitologica* **23**, 327-342.
- Daniel, M., Cerny, V., Dusbabek, F., Honzakova, E. et Olejnicek, J.** (1977). Influence of microclimate on the life cycle of the common tick *Ixodes ricinus* (L.) in an open area in comparison with forests habitats. *Folia parasitologica* **24**, 149-160.
- Daniel, M., Kolar, J., Zeman, P., Pavelka, K. et Sadlo, J.** (1998). Predictive map of *Ixodes ricinus* high-incidence habitats and a tick-borne encephalitis risk assessment using satellite data. *Experimental and Applied Acarology* **22**(7), 417-433. doi: 10.1023/A:1006030827216.
- Daniels, T.J., Falco, R.C. et Fish, D.** (2000). Estimating population size and drag sampling efficiency for the blacklegged tick (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* **37**(3), 357-363.
- Das, A., Lele, S.R., Glass, G.E., Shields, T. et Patz, J.** (2002). Modelling a discrete spatial response using generalized linear mixed models: application to Lyme disease vectors. *International Journal of Geographical Information Science* **16**(2), 151-166.

- de Meeûs, T., Humair, P.-F., Grunau, C., Delaye, C. et Renaud, F. (2004). Non-Mendelian transmission of alleles at microsatellite loci: an example in *Ixodes ricinus*, the vector of Lyme disease. *International Journal for Parasitology* **34**(8), 943-950.
- Degeilh, B. (2007). Données fondamentales à la base des mesures préventives. *Médecine et maladies infectieuses*, doi: 10.1016/j.medmal.2006.01.031.
- Desouhant, E., Debouzie, D. et Menu, F. (1998). Oviposition pattern of phytophagous insects: on the importance of host population heterogeneity. *Oecologia* **114**, 382-388.
- Despommier, D., Ellis, B.R. et Wilcox, B.A. (2007). The role of ecotones in emerging infectious diseases. *EcoHealth* **3**, 281-289. doi: 10.1007/s10393-006-0063-3.
- Diuk-Wasser, M.A., Gatewood, A.G., Cortinas, M.R., Yaremych-Hamer, S., Tsao, J., Kitron, U., Hickling, G., Brownstein, J.S., Walker, E., Piesman, J. et Fish, D. (2006). Spatiotemporal pattern of host-seeking *Ixodes scapularis* nymphs (Acari: Ixodidae) in the United States. *Journal of Medical Entomology* **43**(2), 166-176.
- Ducurf, G. et Thiry, C. (2003). *Les plantes bio-indicatrices: guide de diagnostic des sols*, Briant: Promonature, 278 p.
- Duffy, D.C., Clark, D.D., Campbell, S.R., Gurney, S., Perello, R. et Simon, N. (1994). Landscape patterns of abundance of *Ixodes scapularis* (Acari, ixodidae) on Shelter Island, New York. *Journal of Medical Entomology* **31**(6), 875-879.
- Duh, D., Petrovec, M. et Avsic-Zupanc, T. (2001). Diversity of *Babesia* Infecting European sheep ticks (*Ixodes ricinus*). *Journal of Clinical Microbiology* **39**(9), 3395-3397. doi: 10.1128/JCM.39.9.3395-3397.2001.
- Eisen, L., Eisen, R.J. et Lane, R.S. (2004). The roles of birds, lizards, and rodents as hosts for the western black-legged tick *Ixodes pacificus*. *Journal of Vector Ecology* **29**(2), 295-308.
- Eisen, R.J., Eisen, L., Castro, M.B. et Lane, R.S. (2003). Environmentally related variability in risk of exposure to Lyme disease spirochetes in Northern California: effect of climatic conditions and habitat type. *Environmental Entomology* **32**, 1010-1018.
- Eisen, R.J., Eisen, L. et Lane, R.S. (2005). Remote sensing (normalized difference vegetation index) classification of risk versus minimal risk habitats for human exposure to *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) nymphs in Mendocino County, California. *Journal of Medical Entomology* **42**(1), 75-81.
- Eisen, R.J., Eisen, L. et Lane, R.S. (2006). Predicting density of *Ixodes pacificus* nymphs in dense woodlands in Mendocino county, California, based on geographic information systems and remote sensing versus field-derived data. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **74**(4), 632-640.
- Elston, D.A., Moss, R., Boulinier, T., Arrowsmith, C. et Lambin, X. (2001). Analysis of aggregation, a worked example: numbers of ticks on red grouse chicks. *Parasitology* **122**, 563-569.

- Estrada-Peña, A.** (1999). Geostatistics as predictive tools to estimate *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) habitat suitability in the western Palearctic from AVHRR satellite imagery. *Experimental and Applied Acarology* **23**, 337–349.
- Estrada-Peña, A.** (2001). Distribution, abundance, and habitat preferences of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in Northern Spain. *Journal of Medical Entomology* **38**(3), 361-370.
- Estrada-Peña, A.** (2002). Increasing habitat suitability in the United States for the tick that transmits Lyme disease: a remote sensing approach. *Environmental Health Perspectives* **110**(7), 635-640.
- Estrada-Peña, A., Martínez, J.M., Sanchez Acedo, C., QuiLez, J. et Del Cacho, E.** (2004). Phenology of the tick, *Ixodes ricinus*, in its southern distribution range (central Spain). *Medical and Veterinary Entomology* **18**, 387-397.
- Estrada-Peña, A., Osácar, J.J., Pichon, B. et Gray, J.S.** (2005). Hosts and pathogen detection for immature stages of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in North-Central Spain. *Experimental and Applied Acarology* **37**(3), 257-268. doi: 10.1007/s10493-005-3271-6.
- Estrada-Peña, A., Venzal, J.M. et Sanchez Acedo, C.** (2006). The tick *Ixodes ricinus*: distribution and climate preferences in the western Palaeartic. *Medical and Veterinary Entomology* **20**, 189-197.
- Euzéby, J.P.** (2002a). *Anaplasma phagocytophilum*. [En ligne] <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/aa/phagocytophila.html>, Dernier accès: 02/08/2007.
- Euzéby, J.P.** (2002b). *Francisella*. [En ligne] <http://www.bacteriologie.net/medicale/francisella.html>, Dernier accès: 02/08/2007.
- Gardiner, W.P. et Gettinby, G.** (1983). A weather-based prediction model for the life-cycle of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. *Veterinary Parasitology* **13**(1), 77-84.
- Gardiner, W.P., Gettinby, G. et Gray, J.S.** (1981). Models based on weather for the development phases of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. *Veterinary Parasitology* **9**(1), 75-86.
- Gay, E.** (2006). *Détection d'agrégats spaciaux dans le cas d'une variable continue: application à un indicateur de l'infection mammaire chez les bovins*. Thèse en épidémiologie. Theix: Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand.
- George, J.C. et Chastel, C.** (2002). Maladies vectorielles à tiques et modifications de l'écosystème en Lorraine. *Bull Soc Pathol Exot* **95**(2), 95-100.
- Gigon, F.** (1985). *Biologie d'Ixodes ricinus L. sur le Plateau Suisse - Une contribution à l'écologie de ce vecteur*. Neuchâtel: Faculté des Sciences de Neuchâtel, 238 p.
- Gilot, B., Bonnefille, M., Degeilh, B., Beaucournu, J.-C., Pichot, J. et Guiguen, C.** (1994). La colonisation des massifs forestiers par *Ixodes ricinus* (Linné, 1758) en France: Utilisation du chevreuil, *Capreolus capreolus* (L. 1758) comme marqueur biologique. *Parasite* **1**, 81-86.

- Gilot, B., Degeilh, B., Pichot, J., Doche, B., Boero, L., Pawlack, C. et Lebourdeles, S.** (1996). Prevalence of *Borrelia burgdorferi*(sensu lato) in *Ixodes ricinus* (L.) populations in France, according to a phytoecological zoning of the territory. *European Journal of Epidemiology* **12**, 395-401. doi: 10.1007/BF00145304.
- Gilot, B., Pautou, G. et Moncada, E.** (1975a). L'analyse de la végétation appliquée à la détection des populations de tiques exophiles dans le Sud-Est de la France: l'exemple d'*Ixodes ricinus* (Linné 1798) (Acarina, Ixodoidea). *Acta Tropica Separatum* **32**(4), 340-347.
- Gilot, B., Pautou, G., Moncada, E. et Ain, G.** (1975b). Première contribution à l'étude écologique d'*Ixodes ricinus* (Linné 1758) (Acarina, Ixodoidea) dans le Sud-Est de la France. *Acta Tropica* **32**, 232-258.
- Gilot, B., Pautou, G., Moncada, E., Lachet, B. et Christin, J.G.** (1979). La cartographie des populations de tiques exophiles par le biais de la végétation: bases écologiques, intérêt épidémiologique. *Document de cartographie écologique, Grenoble XXII*, 65-80.
- Goodman, J.L., Dennis, D.T. et Sonenshine, D.E.** (2005). *Tick-borne disease of Humans*, Washington DC: ASM Press, 401 p.
- Gray, J.S.** (1985). A carbon dioxide trap for prolonged sampling of *Ixodes ricinus* L. populations. *Experimental and Applied Acarology* **1**(1), 35-44. doi: 10.1007/BF01262198.
- Gray, J.S.** (1998). Review: The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. *Experimental and Applied Acarology* **22**, 249-258.
- Gray, J.S.** (2002). Biology of *Ixodes* species ticks in relation to tick-borne zoonoses. *Wiener Klinische Wochenschrift* **114**(13-14), 473-478.
- Gray, J.S., Kahl, O., Janetzki, C. et Stein, J.** (1992). Studies on the ecology of Lyme disease in a deer forest in County Galway, Ireland. *Journal of Medical Entomology* **29**(6), 915-920.
- Gray, J.S., Kahl, O., Janetzki, C., Stein, J. et Guy, E.** (1995). The spatial-distribution of *Borrelia burgdorferi* infected *Ixodes ricinus* in the Connemara region of county Galway, Ireland. *Experimental and Applied Acarology* **19**(3), 163-172.
- Gray, J.S., Kahl, O., Robertson, J.N., Daniel, M., Estrada-Peña, A., Gettinby, G., Jaenson, T.G.T., Jensen, P.M., Jongejan, F., Korenberg, E.I., Kurtenbach, K. et Zeman, P.** (1998). Lyme borreliosis habitat assessment. *Zentralblatt für Bakteriologie* **287**(3), 211-228.
- Gray, J.S., Kirstein, F., Robertson, J.N., Stein, J. et Kahl, O.** (1999). *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks and rodents in a recreational park in south-western Ireland. *Experimental and applied acarology* **23**(9), 717-729. doi: 10.1023/A:1006233700194.
- Greene, W.H.** (1994). *Accounting for excess zeros and sample selection in Poisson and negative binomial regression models*. Working Paper EC-94-10. Stern School of Business, New York University.
- Guiguen, C. et Degeilh, B.** (2001). Les tiques d'intérêt médical: Rôle vecteur et diagnose de laboratoire. *Revue Française des Laboratoires* **338**, 49-57.

- Guisan, A. et Zimmermann, N.E. (2000). Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling* **135**(2-3), 147-186.
- Halos, L. (2005). *Détection de bactéries pathogènes dans leur vecteur, les tiques dures (Acarien: Ixodidae)*. Doctorat en microbiologie infectieuse. Paris: Institut National Agronomique Paris-Grignon, 203 p.
- Halos, L., Mavrisa, M., Vourc'h, G., Maillard, R., Barnouin, J., Boulouis, H.-J. et Vayssier-Taussat, M. (2006). Broad-range PCR-TTGE for the first-line detection of bacterial pathogen DNA in ticks. *Veterinary Research* **37**, 245-253. doi: 10.1051/vetres:2005055.
- Hanincova, K., Schäfer, S.M., Etti, S., Sewell, H.-S., Taragelova, V., Ziak, D., Labuda, M. et Kurtenbach, K. (2003). Association of *Borrelia afzelii* with rodents in Europe. *Parasitology* **126**, 11–20. doi: 10.1017/S0031182002002548.
- Haydon, D.T., Cleaveland, S., Taylor, L.H. et Laurenson, M.K. (2002). Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases* **8**, 1468-1473.
- Hinde, J. et Demétrio, C.G.B. (1998). Overdispersion: models and estimation. *Computational Statistics & Data Analysis* **27**, 151-170.
- Hubálek, Z., Halouzka, J. et Juricová, Z. (2003a). Host-seeking activity of ixodid ticks in relation to weather variables. *Journal of Vector Ecology* **28**(2), 159-165.
- Hubálek, Z., Halouzka, J. et Juricová, Z. (2003b). Longitudinal surveillance of the tick *Ixodes ricinus* for borreliae. *Medical and Veterinary Entomology* **17**(1), 46-51.
- Hughes, V.L. et Randolph, S.E. (2001). Testosterone increases the transmission potential of tick-borne parasites. *Parasitology* **123**, 365-371.
- Humair, P.F., Douet, V., Moran Cadena, F., Schouls, L.M., Van de Pol, I. et Gern, L. (2007). Molecular identification of bloodmeal source in *Ixodes ricinus* ticks using 12S rDNA as a genetic marker. *Journal of Medical Entomology* **44**(5), 869-880.
- Humair, P.F. et Gern, L. (1998). Relationship between *Borrelia burgdorferi* sensu lato species, red squirrels (*Sciurus vulgaris*) and *Ixodes ricinus* in enzootic areas in Switzerland. *Acta Tropica* **69**(3), 213-227.
- Institut de Veille Sanitaire (2005). *La maladie de Lyme. Données du réseau de surveillance de la maladie en Alsace. Mars 2001-Février 2003*. Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France.
- Jackson, L.E., Hilborn, E.D. et Thomas, J.C. (2006). Towards lanscape design guidelines for reducing Lyme disease risk. *International Journal of Epidemiology* **35**, 315-322. doi: 10.1093/ije/dyi284.
- Jado, I., Oteo, J.A., Aldámiz, M., Gil, H., Escudero, R., Ibarra, V., Portu, J., Portillo, A., Lezaun, M.J., García-Amil, C., Rodríguez-Moreno, I. et Anda, P. (2007). *Rickettsia monacensis* and human disease, Spain. *Emerging Infectious Diseases* **13**(9), 1405-1407.

- Jones, C.G., Ostfeld, R.S., Richard, M.P., Schaubert, E.M. et Wolff, J.O.** (1998). Chain reactions linking acorns to gypsy moth outbreaks and Lyme disease risk. *Science* **279**(5353), 1023 - 1026. doi: 10.1126/science.279.5353.1023.
- Jongejan, F. et Uilenberg, G.** (2005). The global importance of ticks. *Parasitology* **129**(Supplement S1), S3-S14. doi: 10.1017/S0031182004005967.
- Jouda, F., Perret, J.L. et Gern, L.** (2004). *Ixodes ricinus* density, and distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection along an altitudinal gradient. *Journal of Medical Entomology* **41**(2), 162-169.
- Kahl, O., Janetzki-Mittmann, C., Gray, J.S., Jonas, R., Stein, J. et de Boer, R.** (1998). Risk of infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato for a host in relation to the duration of nymphal *Ixodes ricinus* feeding and the method of tick removal. *Zentralbl Bakteriologie [B]* **287**(1-2), 41-52.
- Kallio-Kokko, H., Uzcategui, N., Vapalahti, O. et Vaheri, A.** (2005). Viral zoonoses in Europe. *Federation of European Microbiological Societies. Microbiology Reviews* **29**, 1051-1077. doi: 10.1016/j.femsre.2005.04.012.
- Kirstein, F. et Gray, J.S.** (1996). A molecular marker for the identification of the zoonotic reservoirs of Lyme borreliosis by analysis of the blood meal in its European vector *Ixodes ricinus*. *Applied and Environmental Microbiology* **62**(11), 4060-4065.
- Kitron, U.** (1998). Landscape ecology and epidemiology of vector-borne diseases: tools for spatial analysis. *Journal of Medical Entomology* **35**(4), 435-445.
- Kitron, U. et Kazmierczak, J.J.** (1997). Spatial analysis of the distribution of Lyme disease in Wisconsin. *American journal of Epidemiology* **145**(6), 558-566.
- Kitron, U. et Mannelli, A.** (1994), Modeling the ecological dynamics of tick-borne zoonoses. Dans D. E. Sonenshine et T. N. Mather eds. *Ecological dynamics of tick-borne zoonoses*. Oxford: Oxford University Press, p. 198-239.
- Klein, S.L.** (2004). Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunology* **26**, 247-264.
- Kurtenbach, K., Hanincova, K., Tsao, J.I., Margos, G., Fish, D. et Ogden, N.H.** (2006). Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nature Reviews Microbiology* **4**(9), 660-669.
- Kuttler, K.L.** (1984). *Anaplasma* infections in wild and domestic ruminants: a review. *Journal of Wildlife Diseases* **20**(1), 12-20.
- L'Hostis, M., Chauvet, S., Devers, P. et Chauvin, A.** (2007). Tiques et babésioses, transmission et aspects cliniques chez les bovins. *Le nouveau praticien vétérinaire juillet/septembre 2007*, 21-26.
- L'Hostis, M., Chauvin, A., Valentin, A., Marchand, A. et Gorenflot, A.** (1995a). Large scale survey of bovine babesiosis due to *Babesia divergens* in France. *The Veterinary Record* **14**, 36-38.
- L'Hostis, M., Diarra, O. et Seegers, H.** (1994). Sites of attachment and density assessment in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on dairy cows. *Experimental and Applied Acarology* **18**, 681-689.

- L'Hostis, M., Dumon, H., Dorchies, B., Boisdron, F. et Gorenflot, A.** (1995b). Seasonal incidence and ecology of the tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on grazing pastures in Western France. *Experimental and Applied Acarology* **19**, 211-220.
- L'Hostis, M., Dumon, H., Fusade, A., Lazareff, S. et Gorenflot, A.** (1996). Seasonal incidence of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on rodents in western France. *Experimental and Applied Acarology* **20**, 359-368.
- L'Hostis, M. et Seegers, H.** (2002). Tick-borne parasitic diseases in Cattle: Current knowledge and prospective risk analysis related to the ongoing evolution in French cattle farming systems. *Veterinary Research* **33**, 599-611.
- Labuda, M. et Nuttall, P.A.** (2005). Tick-borne viruses. *Parasitology* **129**(Supplement S1), S221-S246.
- Last, J.M.** (1988). *A dictionary of epidemiology*, 2^{de} edn. New York: Oxford University Press, 141 p.
- Lees, A.D. et Milne, A.** (1951). The seasonal and diurnal activities of individual sheep ticks (*Ixodes ricinus* L.). *Parasitology* **41**, 189-208.
- Levin, M.L. et Fish, D.** (2000). Acquisition of coinfection and simultaneous transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* ticks. *Infection and Immunity* **68**(4), 2183-2186.
- Lindgren, E., Tälleklint, L. et Polfeldt, T.** (2000). Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick *Ixodes ricinus*. *Environmental Health Perspectives* **108**(2), 119-123.
- Lindstrom, A. et Jaenson, T.G.T.** (2003). Distribution of the common tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), in different vegetation types in Southern Sweden. *Journal of Medical Entomology* **40**(4), 375-378.
- MacLeod, J.** (1932). The bionomics of *Ixodes ricinus* L., the "sheep tick" of Scotland. *Parasitology* **24**, 382-400.
- MacLeod, J.** (1934). *Ixodes ricinus* in relation to its physical environment: the influence of climate on development. *Parasitology* **26**, 282-305.
- MacLeod, J.** (1935). *Ixodes ricinus* in relation to its physical environment. II. Factors governing survival and activity. *Parasitology* **27**, 123-144.
- Madhav, N.K., Brownstein, J.S., Tsao, J.I. et Fish, D.** (2004). A dispersal model for the range expansion of blacklegged tick (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* **41**(5), 842-852.
- Maslin, J., Beugnet, F., Davoust, B. et Klotz, F.** (2004). Babésioses. *EMC-Maladies Infectieuses* **1**, 281-292.
- Massung, R.F., Priestley, R.A. et Levin, M.L.** (2004). Transmission route efficacy and kinetics of *Anaplasma phagocytophilum* infection in the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **4**(4), 310-318.

- Matuschka, F.-R., Richter, D., Fischer, P. et Spielman, A.** (1990). Time of repletion of subadult *Ixodes ricinus* ticks feeding on diverse hosts. *Parasitology Research* **76**, 540-544.
- Matuschka, F.-R., Richter, D. et Spielman, A.** (1991). Differential detachment from resting hosts of replete larval and nymphal *Ixodes* ticks. *Journal of Parasitology* **77**(3), 341-345.
- McCoy, K.D., Chapuis, E., Tirard, C., Boulinier, T., Michalakis, Y., Le Bohec, C., Le Maho, Y. et Gauthier-Clerc, M.** (2005). Recurrent evolution of host-specialized races in a globally distributed parasite. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **272**(1579), 2389-2395.
- McCullagh, P. et Nelder, J.A.** (1991). *Generalized linear models*, 2nd edn. Cambridge: University Press, 511 p.
- Meljon, H.A. et Jaenson, T.G.T.** (1997). Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology* **21**, 747-754.
- Mermod, C., Aeschlimann, A. et Graf, J.-F.** (1974). Écologie et éthologie d'*Ixodes ricinus* L. en Suisse. Deuxième note: comparaison des populations 1972 et 1973. *Acarologia* **16**, 612-620.
- Michalik, J., Hofman, T., Buczek, A., Skoracki, M. et Sikora, B.** (2003). *Borrelia burgdorferi* s.l. in *Ixodes ricinus* (Acari : ixodidae) ticks collected from vegetation and small rodents in recreational areas of the City of Poznan. *Journal of Medical Entomology* **40**(5), 690-697.
- Milne, A.** (1943). The comparison of sheep-tick populations (*Ixodes ricinus* L.). *Annalyse and Applied Biology* **30**, 240-250.
- Milne, A.** (1945). The ecology of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. The seasonal activity in Britain with particular reference to Northern England. *Parasitology* **36**, 142-152.
- Milne, A.** (1950). The ecology of sheep tick, *Ixodes ricinus* L. Spatial distribution. *Parasitology* **40**, 35-45.
- Nelson, L. et Clark, F.W.** (1973). Correction for sprung traps in catch/effort calculations of trapping results. *Journal of Mammalogy* **54**, 295-298.
- Nilsson, A. et Lundqvist, L.** (1978). Host selection and movements of *Ixodes ricinus* (Acari) larvae on small mammals. *OIKOS* **31**, 313-322.
- Ogden, N.H., Barker, I.K., Beauchamp, G., Brazeau, S., Charron, D.F., Maarouf, A., Morshed, M.G., O'Callaghan, C.J., Thompson, R.A., Waltner-Toews, D., Waltner-Toews, M. et Lindsay, L.R.** (2006). Investigation of ground level and remote-sensed data for habitat classification and prediction of survival of *Ixodes scapularis* in habitats of southeastern Canada. *Journal of Medical Entomology* **43**(2), 403-414.
- Ogden, N.H., Bigras-Poulin, M., O'Callaghan, C.J., Barker, I.K., Lindsay, L.R., Maarouf, A., Smoyer-Tomic, K.E., Waltner-Toews, D. et Charron, D.** (2005). A dynamic population model to investigate effects of climate on geographic range and seasonality of the tick *Ixodes scapularis*. *International Journal for Parasitology* **35**(4), 375-339.

- Ogden, N.H., Hailes, R.S. et Nuttall, P.A.** (1998). Interstadial variation in the attachment sites of *Ixodes ricinus* ticks on sheep. *Experimental and Applied Acarology* **22**, 227–232.
- ONCFS** (2005). Tableaux de chasse cerf-chevreuil-sanglier. Saison 2005-2006. [En ligne]
http://www.oncfs.gouv.fr/events/point_faune/mammifere/TCGG_0506.pdf.
- Osterkamp, J., Wahl, U., Schmalfluss, G. et Haas, W.** (1999). Host-odour recognition in two tick species is coded in a blend of vertebrate volatiles. *Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* **185**(1), 59-67.
- Ostfeld, R.S., Hazler, K.R. et Cepeda, O.M.** (1996). Temporal and spatial dynamics of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a rural landscape. *Journal of Medical Entomology* **33**(1), 90-95.
- Pardanani, N. et Mather, T.N.** (2004). Lack of spatial autocorrelation in fine-scale distributions of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* **41**(5), 861-864.
- Parmesan, C. et Yohe, G.** (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* **421**, 37-42.
- Parola, P. et Raoult, D.** (2001). Review article: ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases* **32**, 897-928.
- Paulauskas, A., Radzijeuskaja, J., Rosef, O., Turcinaviciene, J., Ambrasiene, D. et Makareviciute, D.** (in press). Genetic variation of ticks (*Ixodes ricinus* L.) in the Lithuanian and Norwegian populations *Experimental and Applied Acarology*.
- Pérez-Eid, C.** (2001). Déterminisme de distribution géographique des maladies transmises par les tiques. *Médecine et Maladies infectieuses* **31**(2), 184-187.
- Pérez-Eid, C.** (2007). *Les tiques. Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire*, Paris: Lavoisier, 314 p.
- Perkins, S.E., Cattadori, I.M., Tagliapietra, V., Rizzoli, A.P. et Hudson, P.J.** (2003). Empirical evidence for key hosts in persistence of a tick-borne disease. *International Journal for Parasitology* **33**, 909-917.
- Perret, J.-L.** (2002). *Computer-assisted laboratory observations and field studies of the host-finding behaviour of the tick Ixodes ricinus (Acarina: Ixodidae): ecological implications of climate and light*. Thèse. Université de Neuchâtel: Institut de zoologie, 248 p.
- Perret, J.-L., Guerin, P.M., Diehl, P.A., Vlimant, M. et Gern, L.** (2003). Darkness induces mobility, and saturation deficit limits questing duration, in the tick *Ixodes ricinus*. *The Journal of Experimental Biology* **206**, 1809-1815.
- Perret, J.-L., Guigoz, E., Rais, O. et Gern, L.** (2000). Influence of saturation deficit and temperature on *Ixodes ricinus* tick quest activity in a Lyme borreliosis-endemic area (Switzerland). *Parasitology Research* **86**, 554-557.

- Perret, J.-L., Rais, O. et Gern, L.** (2004). Influence of climate in the proportion of *Ixodes ricinus* nymphs and adults questing in a tick population. *Journal of Medical Entomology* **41**(3), 361-365.
- Petney, T.N., van Ark, H. et Spickett, A.M.** (1990). On sampling tick populations: the problem of overdispersion. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **57**, 123-127.
- Pichon, B., Mousson, L., Figureau, C., Rodhain, F. et Pérez-Eid, C.** (1999). Density of deer in relation to the prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. in *Ixodes ricinus* nymphs in Rambouillet forest, France. *Experimental and Applied Acarology* **23**, 267-275.
- Pichon, B., Rogers, M., Egan, D. et Gray, J.** (2005). Blood-meal analysis for the identification of reservoir hosts of tick-borne pathogens in Ireland. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* **5**(2), 172-180.
- Piesman, J. et Gern, L.** (2005). Lyme borreliosis in Europe and North America. *Parasitology* **129**(Supplement S1), S191-S220.
- Potts, J.M. et Elith, J.** (2006). Comparing species abundance models. *Ecological Modelling* **199**(2), 153-163. doi:10.1016/j.ecolmodel.2006.05.025
- Randolph, S.E.** (2001). The shifting landscape of tick-borne zoonoses: tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis in Europe. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **356**(1411), 1045-1056. doi: 10.1098/rstb.2001.0893.
- Randolph, S.E.** (2003). Faune, climat et politique. Causes possibles aux récents accroissements des zoonoses à tiques. *Annales de l'Institut Pasteur. Actualités* **16**, 109-120.
- Randolph, S.E.** (2005). Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology* **129**(Supplement S1), S37-S66.
- Randolph, S.E. et Craine, N.G.** (1995). General framework for comparative quantitative studies on transmission of tick-borne diseases using Lyme borreliosis in Europe as an example. *Journal of medical entomology* **32**(6), 765-777.
- Randolph, S.E., Green, R.M., Hoodless, A.N. et Peacey, M.F.** (2002). An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick *Ixodes ricinus*. *International Journal for Parasitology* **32**(8), 979-989.
- Randolph, S.E., Green, R.M., Peacey, M.F. et Rogers, D.J.** (2000). Seasonal synchrony: the key to tick-borne encephalitis foci identified by satellite data. *Parasitology* **121**, 15-23. doi:10.1017/S0031182099006083.
- Randolph, S.E., Miklisova, D., Lysy, J., Rogers, D.J. et Labuda, M.** (1999). Incidence from coincidence: patterns of tick infestations on rodents facilitate transmission of tick-borne encephalitis virus. *Parasitology* **118**, 177-186.
- Randolph, S.E. et Storey, K.** (1999). Impact of microclimate on immature tick-rodent host interactions (Acari: Ixodidae): implications for parasite transmission. *Journal of Medical Entomology* **36**(6), 741-748.

- Ratkowsky, D.A.** (1989). *Handbook of nonlinear regression models*, New York: Marcel Dekker, 241 p.
- Richter, D. et Matuschka, F.-R.** (2006). Perpetuation of Lyme disease spirochete *Borrelia lusitaniae* by lizards. *Applied and Environmental Microbiology* **72**(7), 4627-4632. doi: 10.1128/AEM.00285-06.
- Richter, D., Schlee, D.B., Allgöwer, R. et Matuschka, F.-R.** (2004). Relationships of a novel Lyme disease spirochete, *Borrelia spielmani* sp. nov., with its hosts in Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* **70**(11), 6414-6419. doi: 10.1128/AEM.70.11.6414-6419.2004.
- Richter, D., Schlee, D.B. et Matuschka, F.-R.** (2003). Relapsing fever-like spirochetes infecting European vector tick of Lyme disease agent. *Emerging Infectious Diseases* **9**(6).
- Ridout, M., Demétrio, C.G.B. et Hinde, J.** 1998, *Models for count data with many zeros*. **Dans** *International Biometric Conference*, December 1998, Cape Town. 13 p.
- Rizzoli, A., Merler, S., Furlanello, C. et Genchi, C.** (2002). Geographical information systems and bootstrap aggregation (bagging) of tree-based classifiers for Lyme disease risk prediction in Trentino, Italian Alps. *Journal of Medical Entomology* **39**(3), 485-492.
- Røed, K.H., Hasle, G., Midthjell, V., Skretting, G. et Leinaas, H.P.** (2006). Identification and characterization of 17 microsatellite primers for the tick, *Ixodes ricinus*, using enriched genomic libraries. *Molecular Ecology Notes* **6**(4), 1165-1167.
- Rozsa, L., Reiczigel, J. et Majoros, G.** (2000). Quantifying parasites in samples of hosts. *Journal of Parasitology* **86**(2), 228-232.
- Sabatier, P., Bicout, D.J., Durand, B. et Dubois, M.A.** (2005). Le recours à la modélisation en épidémiologie animale. *Epidémiologie et santé animale* **47**, 15-33.
- Samish, M. et Rehacek, J.** (1999). Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. *Annual Review of Entomology* **44**, 159-182.
- Schmidtman, E.T., Schlater, J.L., Maupin, G.O. et Mertins, J.W.** (1998). Vegetational associations of host-seeking adult blacklegged ticks, *Ixodes scapularis* Say (Acari: Ixodidae), on dairy farms in northwestern Wisconsin. *Journal of Dairy Science* **81**(3), 718-721.
- Schouls, L.M., Van de Pol, I., Rijpkema, S.G.T. et Schot, C.S.** (1999). Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Bartonella* species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. *Journal of Clinical Microbiology* **37**(7), 2215-2222.
- Schulze, T.L., Jordan, R.A. et Hung, R.W.** (1997). Biases associated with several sampling methods used to estimate abundance of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* **34**(6), 615-623.

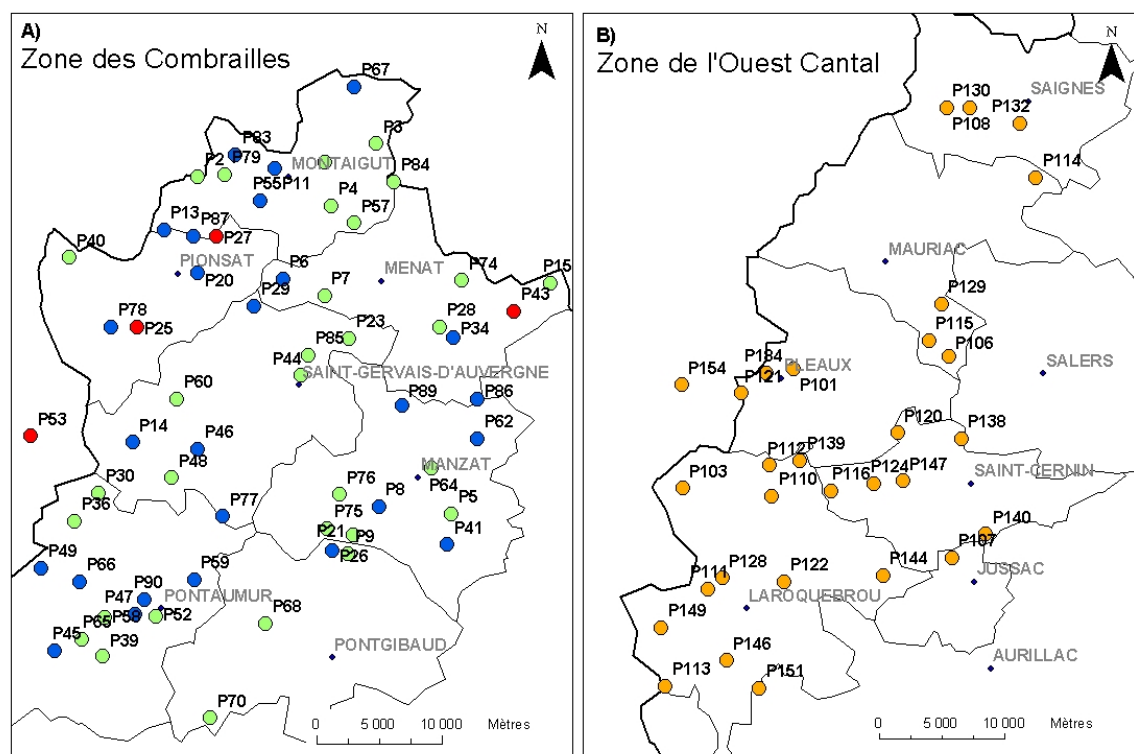
- Schulze, T.L., Jordan, R.A. et Hung, R.W. (2001). Potential effects of animal activity on the spatial distribution of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* **30**(3), 568-577.
- Schulze, T.L., Jordan, R.A. et Hung, R.W. (2002). Effect of microscale habitat physiognomy on the focal distribution of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) nymphs. *Journal of Medical Entomology* **31**(6), 1085-1090.
- Shaw, D.J. et Dobson, A.P. (1995). Patterns of macroparasite abundance and aggregation in wildlife populations: a quantitative review. *Parasitology* **111**, (Suppl.) S111-S133.
- Shaw, D.J., Grenfell, B.T. et Dobson, A.P. (1998). Patterns of macroparasite aggregation in wildlife host populations. *Parasitology* **117**, 597-610.
- Simser, J.A., Palmer, A.T., Fingerle, V., Wilske, B., Kurtti, T.J. et Munderloh, U.G. (2002). *Rickettsia monacensis* sp. nov., a spotted fever group rickettsia, from ticks (*Ixodes ricinus*) collected in a European city park. *Applied and Environmental Microbiology* **68**(9), 4559-4566. doi: 10.1128/AEM.68.9.4559-4566.2002.
- Sinski, E., Pawelczyk, A., Bajer, A. et Behnke, J.M. (2006). Abundance of wild rodents, ticks and environmental risk of Lyme borreliosis: A longitudinal study in an area of Mazury Lakes district of Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* **13**(2), 295-300.
- Smith, K.F., Dobson, A.P., McKenzie, F.E., Real, L.A., Smith, D.L. et Wilson, M.L. (2005). Ecological theory to enhance infectious disease control and public health policy. *Frontiers in Ecology and Environment* **3**(1), 29-37.
- Sonenshine, D.E. (1993). *Biology of ticks*, Oxford: Oxford University Press,
- Sonenshine, D.E. (2005). Pheromones and other semiochemicals of ticks and their use in tick control. *Parasitology* **129**(Supplement S1), S405-S426.
- Sprent, P. (1992). *Pratique des statistiques non paramétriques*, Paris: 294 p.
- Sréter, T., Egyed, L., Széll, Z. et Sréter-Lancz, Z. (2005a). Molecular evidence of *Rickettsia helvetica* and *R. monacensis* infections in *Ixodes ricinus* from Hungary. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **99**(3), 325-330.
- Sréter, T., Széll, Z. et Varga, I. (2005b). Spatial distribution of *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus* in Hungary: evidence for change? *Veterinary Parasitology* **128**, 347-351.
- Stafford, K.C. (1992). Oviposition and larval dispersal of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* **29**(1), 129-132.
- Storfer, A., Murphy, M.A., Evans, J.S., Goldberg, C.S., Robinson, S., Spear, S.F., Dezzani, R., Delmelle, E., Vierling, L. et Waits, L.P. (2007). Putting the 'landscape' in landscape genetics. *Heredity* **98**(3), 128-142. doi:10.1038/sj.hdy.6800917.
- Swanson, S.J., Neitzel, D., Reed, K.D. et Belongia, E.A. (2006). Coinfections acquired from *Ixodes* ticks. *Clinical Microbiology Reviews* **19**(4), 708-727.

- Tälleklint-Eisen, L. et Lane, R.S.** (2000). Efficiency of drag sampling for estimating population sizes of *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) nymphs in leaf litter. *Journal of Medical Entomology* **37**(3), 484-487.
- Taylor, L.R.** (1961). Aggregation, variance and the mean. *Nature* **189**, 732-735.
- Toma, B., Bénét, J.-J., Dufour, B., Eloit, M., Moutou, F. et Sanaa, M.** (1991). *Glossaire d'épidémiologie animale*, Maisons-Alfort, France: Editions du Point Vétérinaire, 365 p.
- Vassallo, M., Paul, R.E.L. et Pérez-Eid, C.** (2000a). Temporal distribution of the annual nymphal stock of *Ixodes ricinus* ticks. *Experimental and Applied Acarology* **24**, 941-949. doi 10.1023/A:1010669003887.
- Vassallo, M. et Pérez-Eid, C.** (2002). Comparative behavior of different life-cycle stages of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) to human-produced stimuli. *Journal of Medical Entomology* **39**(1), 234-236.
- Vassallo, M., Pichon, B., Cabaret, J., Figureau, C. et Pérez-Eid, C.** (2000b). Methodology for sampling questing nymphs of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), the principal vector of Lyme disease in Europe. *Journal of Medical Entomology* **37**(3), 335-339.
- Vuong, Q.H.** (1989). Likelihood ratio tests for model selection and non-nested hypotheses. *Econometrica* **57**(2), 307-333.
- Walker, A.R.** (2001). Age structure of a population of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in relation to its seasonal questing. *Bulletin of Entomological Research* **91**, 69-78. doi: 10.1079/BER200065.
- Walther, G.-R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.-M., Hoegh-Guldberg, O. et Bairlein, F.** (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature* **416**, 389-395. doi: 10.1038/416389a.
- Wilcox, B.A. et Ellis, B.** (2006). Les forêts et les maladies infectieuses émergentes chez l'homme. *Unasylva* **224**(57), 11-18.
- Wilder, S.M., Abtahi, A.M. et Meikle, D.B.** (2005). The effects of forest fragmentation on densities of white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) during the winter. *The American Midland Naturalist* **153**, 71-79.
- Williams, D.A.** (1982). Extra-binomial variation in logistic linear models. *Applied statistics* **31**(2), 144-148.
- Wilson, K., Bjornstad, O.N., Dobson, A.P., Merler, S., Pogliayen, G., Randolph, S.E., Read, A.F. et Skorping, A.** (2001), Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. **Dans** P. J. Hudson, A. Rizzoli, B. T. Grenfell, H. Heesterbeek, et A. P. Dobson eds. *The ecology of wildlife diseases*. New York: Oxford University Press, p. 6-44.
- Wilson, K. et Grenfell, B.T.** (1997). Generalized linear modelling for parasitologists. *Parasitology Today* **13**(1), 33-38.
- Wilson, K., Grenfell, B.T. et Shaw, D.J.** (1996). Analysis of aggregated parasite distributions: a comparison of methods. *Functional Ecology* **10**, 592-601.

- Wilson, M.L., Gonzalez, J.-P., LeGuenno, B., Cornet, J.-P., Guillaud, M., Calvo, M.-A., Digoutte, J.-P. et Camicas, J.-L.** (1990). Epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Senegal: temporal and spatial patterns. *Archives of Virology Suppl* **1**, 323-340.
- Woldehiwet, Z.** (2006). *Anaplasma phagocytophilum* in ruminants in Europe. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1078**, 446-460.
- World Health Organization** (2004). *The vector-borne human infections of Europe. Their distribution and burden on public health*. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- Xu, G., Fang, Q.Q., Keirans, J.E. et Durden, L.A.** (2003). Molecular phylogenetic analyses indicate that the *Ixodes ricinus* complex is a paraphyletic group. *Journal of Parasitology* **89**(3), 452-457.
- Zeman, P. et Daniel, M.** (1999). Mosaic pattern of Borrelia infection in a continuous population of the tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology* **23**, 327-335.

Annexes

Annexe 1 : Situation géographique des sites d'étude



Localisation des pâtures étudiées A) dans les Combrailles, B) dans l'Ouest Cantal.

En vert, rouge et bleu (zone des Combrailles) : les 61 pâtures examinées en 2003 et 2004. En rouge : les 4 pâtures examinées en 2005. En bleu, rouge et orange : les 60 pâtures examinées en 2006 (30 dans l'Ouest Cantal, 30 dans les Combrailles).

Annexe 2 : Données 2003, 2004 et 2006

A2.I. Acquisition des données

Nous présentons ici les différents formulaires ayant servi à l'acquisition des données en 2006. Ceux-ci ne diffèrent que très légèrement de ceux de 2003 et 2004, aux niveaux de la précision et de l'ergonomie des variables.

L'acquisition des données a débuté suite à l'accord téléphonique des éleveurs concernant la collecte des tiques sur leur terrain et la disponibilité d'une de leurs pâtures remplissant les critères de sélection requis. Les informations précédées d'une étoile sur les « questionnaires éleveur » étaient celles qui étaient destinées à être saisies par voie informatique.

Au travers des campagnes de terrain, le formulaire général concernant la pâture était préalablement rempli, puis un préleveur tirait le drap pendant que le notificateur remplissait les formulaires « tranche ». Pour le bois le plus proche, un formulaire bois général était également rempli, ainsi que des formulaires « tranche du bois ».

Les collaborateurs présents sur le terrain pouvaient changer d'un jour à l'autre. C'est pourquoi, nous avons instauré des « réunions de formation terrain » à destination des nouveaux collaborateurs, dans le but d'assurer le remplissage le plus homogène possible des formulaires. Chaque personne désignée pour tirer le drap devait avoir testé le nombre de pas lui permettant d'avancer de 10 m tout en traînant le drap (par exemple, l'agent VP007 parcourait 10 m en 13 pas).

Questionnaire éleveur du Cantal - Tiq06

Epidémiologie
Animale

Identification

Priorité: _____

Tel: _____

Nom Prénom de l'éleveur: _____

Commune: _____

Questions

Nous sommes une équipe de recherche, travaillant à l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) situé à Theix (Puy-de-Dôme) et nous nous intéressons aux tiques des animaux.

1) Serait-il possible d'aller récolter des tiques sur vos pâtures (pas sur les animaux)? oui non

SI OUI:

★ 2) Quelle est l'orientation principale de votre élevage?

Vaches laitières: Mixtes: Vaches allaitantes: Autres:

SI AUTRE = STOP

★ 3) Quelle est le nombre de mères? Vaches laitières: _____ Vaches allaitantes: _____

4) Y a-t-il une ou plusieurs prairies naturelles permanentes dans laquelle vous mettez au moins 5 génisses pendant 3 mois en 2006? oui non

SI NON = STOP

SI OUI:

Combien: _____

SI PLUSIEURS, NOUS SOMMES INTERESSES PAR LA PLUS PETITE, SITUEE DANS LE MEME CANTON QUE VOTRE EXPLOITATION.

★ 5) Quelle est la race dominante des génisses de la parcelle? _____

★ 6) Quelle est la surface de la parcelle (ha)? _____

★ 7) Avez-vous ou allez-vous verser quelque produit que ce soit entre janvier 2005 et juin 2006? oui non
(Epannage, amendement, herbicide...)

SI OUI:

Quand
(mois)? _____

★ 8) Combien y a-t-il eu de bovins dans cette parcelle en 2005: _____ en 2006: _____

★ 9) Date d'arrivée des bovins sur cette parcelle en 2005? _____ Date de départ: _____

Système de rotation?

SI OUI:

Temps passé par les bovins consécutivement sur la pâture: _____
(en jours; ex: 7 jours, 15 jours...)oui non

Temps écoulé entre 2 période d'occupation de la pâture: _____

★ 10) Est-ce la même période qui est prévue en 2006? oui non SI NON: Arrivée: _____ Départ: _____

Système de rotation?

SI OUI:

Temps passé par les bovins consécutivement sur la pâture: _____
(en jours; ex: 7 jours, 15 jours...)oui non

Temps écoulé entre 2 période d'occupation de la pâture: _____

Formulaire d'enquête téléphonique auprès des éleveurs (feuille 1).

Questionnaire éleveur du Cantal - Tiq06

Epidémiologie
Animale

Identification

Priorité: _____

Suite des questions

★ 11) Y a-t-il une prévention sur les pâtures contre les tiques?

oui non

SI OUI:

Quel(s)
produit(s)?

Quand
(mois)?

★ 12) Y a-t-il une prévention sur les bovins contre les tiques?

oui non

SI OUI:

Quel(s)
produit(s)?

Quand
(mois)?

13) Combien y'a t'il de personne dans votre foyer

★ 14) Avez-vous eu, vous ou votre foyer (+les travailleurs) la maladie de Lyme?

oui non

SI OUI:

Combien de personne,
touchées par la maladie?

Vous souvenez
vous quand a eu
lieu l'infection?

★ 15) Avez-vous eu des cas de piroplasmose chez les bovins?

Combien:

Mois de pointe 1:

Mois de pointe 2:

Est-ce lié à la parcelle dont nous
avons parlé?

En 2004:

oui non

En 2005:

oui non

En 2006:

oui non

★ 16) Pouvez-vous nous indiquer avec précision comment trouver la parcelle?

★ 17) Pouvez-vous mettre un chiffon blanc près de l'entrée pour nous aider la repérer?


oui non

★ 18) Doit-on vous prévenir le jour où nous irons récolter les tiques sur votre parcelle?


oui non

MERCII!


Formulaire d'enquête téléphonique auprès des éleveurs (feuille 2).

Formulaire pâture du Cantal - Tiq06				 Epidémiologie Animale	
Equipe 1 → Départ à droite					
Identification		Priorité: <input type="text"/>	Latitude	longitude	Altitude (m)
Coordonnées GPS:			<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Données Pâtures		Date: <input type="text"/> <small>AA_MM_JJ</small>	Heure déb.: <input type="text"/>	Heure fin: <input type="text"/>	
Topologie	Pente: plat <input type="checkbox"/> faible <input type="checkbox"/> moyen <input type="checkbox"/> fort <input type="checkbox"/>				
Conditions météorologiques générales					
Couverture nuageuse:					
0/8 ^e (clair) <input type="checkbox"/> 1/8 ^e <input type="checkbox"/> 2/8 ^e <input type="checkbox"/> 3/8 ^e <input type="checkbox"/> 4/8 ^e <input type="checkbox"/> 5/8 ^e <input type="checkbox"/> 6/8 ^e <input type="checkbox"/> 7/8 ^e <input type="checkbox"/> 8/8 ^e (Couvert) <input type="checkbox"/>					
Température (°C): <input type="text"/>					
Hygrométrie (%): <input type="text"/>					
Animaux présents sur la pâture					
Nb bovins < 6 mois: <input type="text"/>		Nb bovins > 6 mois: <input type="text"/>			
Autre esp.: oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>		Laquelle: <input type="text"/>			
Éléments paysagers					
% du pourtour de la pâture avec une strate arbustive: <input type="text"/>			Ex. st. arbust.: aubépine, ronces, petits noisetiers, houx, jeunes arbres...		
Esp. (2 max): <input type="text"/>					
% du pourtour de la pâture avec une strate arborescente: <input type="text"/>					
Esp. (2 max): <input type="text"/>					
Présence d'arbre fruitier: (à fruits charnus)		à l'intérieur de la pâture?		sur le pourtour de la pâture?	
Pommier		oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>		oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Cerisier		oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>		oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Autre		oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>		oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Présence d'eau dans la pâture:		non: <input type="checkbox"/>	cours d'eau: <input type="checkbox"/>	mare: <input type="checkbox"/>	marécage: <input type="checkbox"/> (Eau stagnante)
					abreuvoir: <input type="checkbox"/>

Formulaire de terrain concernant l'ensemble de la pâture.

Formulaire tranche de pâture - Tiq06				INRA Epidémiologie Animale	
Identification	Prio: <input type="text"/>	Nom pré.: <input type="text"/> (tire le drap)	Nom not.: <input type="text"/> (qui note)	N° tranche du préleveur: <input type="text"/>	N° tranche absolu: <input type="text"/> Equipe 2: Inscrire à la fin
Caractéristiques de la tranche		Topologie	Pente: plat <input type="checkbox"/> faible <input type="checkbox"/> moyen <input type="checkbox"/> fort <input type="checkbox"/>		
Substrat végétal:		Plantes herbacées	Feuilles mortes / aiguilles / terre	Ronces / broussailles	
Le drap passe sur (présence/absence): (Plusieurs choix possibles)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Le drap passe majoritairement sur: (1 seul choix)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hauteur majoritaire (cm):		0 <input type="checkbox"/>]0-5] <input type="checkbox"/>]5-10] <input type="checkbox"/>]10-30] <input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	>50 <input type="checkbox"/>
Situation de la tranche		Présence d'un bois < 20m? oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>		(1) En cas de marécage: On ne passe pas le drap sur un sol détrempé. Si la tranche tombe sur un terrain marécageux, on se décale vers l'intérieur de la pâture pour tirer le drap (Voir Obs.). On répond aux questions marquées du signe « marécage » 	
		(Bois = arbres sur 100m², soit 10x10 m)			
Connexion du bord de la tranche à un bois? oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>		(Présence de haie continue allant de la tranche au bois, ou lisière au bord de la tranche?)			
Hauteur H majoritaire de la végétation au bord de la tranche:		Des branches surplombent-elles la tranche?		Présence d'arbre fruitier sur le bord de la tranche:	
0 m <input type="checkbox"/>		non <input type="checkbox"/>		oui non	
]0;1] m <input type="checkbox"/>		moins de la moitié <input type="checkbox"/>		pommier <input type="checkbox"/>	
]1;2] m <input type="checkbox"/>		plus de la moitié <input type="checkbox"/>		cerisier <input type="checkbox"/>	
>2 m <input type="checkbox"/>		totalemment <input type="checkbox"/>		Autre espèce (à fruit chamu) <input type="checkbox"/>	
Sur le bord de la tranche, il y a: 1 ^{ère} colonne = pres./abs. → plusieurs choix 2 ^{ème} colonne: dominance → 1 seul choix		De l'autre côté, il y a: 1 ^{ère} colonne = pres./abs. → plusieurs choix 2 ^{ème} colonne: dominance → 1 seul choix			
clôture <input type="checkbox"/>		clôture <input type="checkbox"/>		pâture <input type="checkbox"/>	
broussailles <input type="checkbox"/>		broussailles <input type="checkbox"/>		culture <input type="checkbox"/>	
feuillus / conifères (< 10 m) <input type="checkbox"/>		feuillus / conifères (< 10 m) <input type="checkbox"/>		verger <input type="checkbox"/>	
arbres feuillus (>10m) <input type="checkbox"/>		arbres feuillus (>10m) <input type="checkbox"/>		chemin <input type="checkbox"/>	
arbres conifères (>10m) <input type="checkbox"/>		arbres conifères (>10m) <input type="checkbox"/>		route <input type="checkbox"/>	
obstacle: eau <input type="checkbox"/>		obstacle: eau <input type="checkbox"/>			
obstacle: en dur <input type="checkbox"/>		obstacle: en dur <input type="checkbox"/>			
Def: Broussailles : végétation qui se situe entre l'herbe et les ligneux. Ex: genêts, fougères, ronces, aubépine de moins de 1 m...					
Bord de la tranche: espace qui se situe juste au bord de la tranche, et qui fait la séparation entre la pâture et l'extérieur de la pâture.					
Côté de la tranche: espace qui se situe de l'autre côté de la séparation.					
Obs: Ex: « tranche décalée à l'intérieur de la pâture de 10 m à cause d'un marécage. »					
<input type="text"/>					
Nombre de tiques		Larves (estimation)	Nymphes	Mâles (nb exact)	Femelles
<i>Ixodes ricinus</i> :		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<i>Dermacentor reticulatus</i> :		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Autre :		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Numéroter le tube: AA_MM_JJ_Pprio_prel_Tnum Ex.: 06_05_15_P7_VP_T2					

Formulaire de terrain concernant une tranche de pâture.

Formulaire bois du Cantal - Tiq06					 Epidémiologie Animale	
Identification	Priorité:	<input type="text"/>	Latitude	<input type="text"/>	longitude	<input type="text"/>
	Coordonnées GPS:		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Est-ce le bois le plus proche de la pâture? oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> Le bois est-il situé à moins de 500 m de la pâture? oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> Si oui → Élément séparant le bois de la pâture: (considérez le chemin le plus court, plusieurs choix possibles) rien: <input type="checkbox"/> chemin: <input type="checkbox"/> route: <input type="checkbox"/> cours d'eau: <input type="checkbox"/> cultures / pâtures: <input type="checkbox"/> bâtiments: <input type="checkbox"/>						
Caractéristiques générales du bois	Date:	<input type="text"/>	H. déb.:	<input type="text"/>	H. fin:	<input type="text"/>
	Type de bois: feuillus <input type="checkbox"/> conifères <input type="checkbox"/> mixte <input type="checkbox"/>		Esp. (2 max): <input type="text"/>			
	Pente: plat <input type="checkbox"/> faible <input type="checkbox"/> moyen <input type="checkbox"/> fort <input type="checkbox"/>					
	Température (°C):	<input type="text"/>	Hygrométrie (%):	<input type="text"/>		
Autres observations (ex: « 1 chevreuil vu »...):						
<input type="text"/>						

Formulaire de terrain concernant le bois le plus proche de la pâture.

Formulaire tranche du bois - Tiq06				INRA Epidémiologie Animale		
Identification	Prio: <input type="text"/>	Nom pré.: <input type="text"/> (tire le drap)	Nom not.: <input type="text"/> (qui note)	N° tranche: <input type="text"/>		
Caractéristiques de la tranche			Pente: plat <input type="checkbox"/> faible <input type="checkbox"/> moyen <input type="checkbox"/> fort <input type="checkbox"/>			
Substrat végétal: Le drap passe sur: <small>1^{ère} colonne = pres./abs. → plusieurs choix 2^{ème} colonne: dominance → 1 seul choix</small> feuilles mortes / aiguilles / terre <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> → 0 <input type="checkbox"/> espèces herbacées de sous-bois (dont les jeunes pousses) <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 0-5] <input type="checkbox"/> ronces / broussailles <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>]5-10] <input type="checkbox"/>]10-30] <input type="checkbox"/>]30-50] <input type="checkbox"/> >50] <input type="checkbox"/> Def: Broussailles: végétation qui se situe entre l'herbe et les ligneux. Ex: genêts, fougères, ronces, aubépine de moins de 1 m...			Strate arbustive: pas de strate arbustive <input type="checkbox"/> feuillue <input type="checkbox"/> conifère <input type="checkbox"/> mixte <input type="checkbox"/> <small>Ex. st. arbust.: aubépine, ronces, petits noisetiers, houx, jeunes arbres...</small>			
			Strate arborescente: feuillue <input type="checkbox"/> conifère <input type="checkbox"/> mixte <input type="checkbox"/>			
Nombre de tiques			Larves (estimation)	Nymphes	Mâles (nb exact)	Femelles
<i>Ixodes ricinus:</i>			<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<i>Dermacentor reticulatus:</i>			<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Autre : <input type="text"/>			<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
			Numéroté le tube: AA_MM_JJ_Bprio_prel_Tnum Ex.: 06_05_15_B7_VP_T2			

Formulaire de terrain concernant une tranche du bois.

A2.II. Stockage des données

Les données une fois vérifiées sur les « formulaires papier », elles pouvaient être entrées dans une base de données créée pour les besoins de l'étude. Cette base de données a été construite par la personne ressource en informatique de l'Unité EPIA, en l'occurrence Nelly DORR, selon la méthode MERISE (Méthode d'Étude et de Réalisation Informatique pour les Systèmes d'Entreprise). Les tables et les relations ont été pensées dans l'optique de simplifier au maximum la gestion de l'information et pour permettre l'ajout aisé de nouvelles tables (concernant les résultats de l'analyse du portage bactérien des tiques, par exemple). La saisie a été réalisée à l'aide de formulaires spécifiques comportant des contrôles de cohérence automatiques réalisés en langage Visual Basic. Par ailleurs, 10% des saisies, sélectionnées aléatoirement, ont été vérifiées. Si le taux d'erreurs dans un champ donné dépassait 10%, la totalité des saisies de celui-ci était revérifiée.

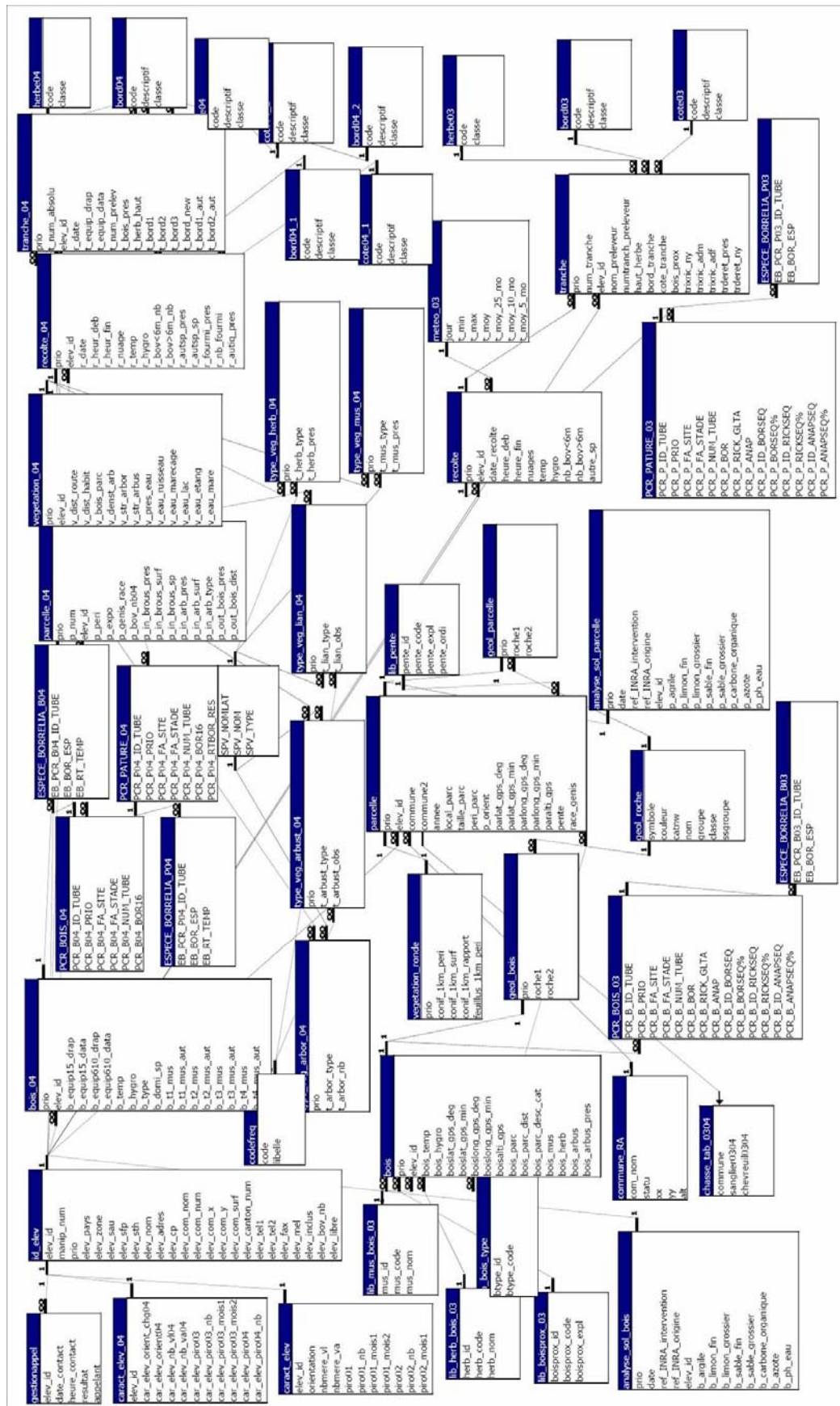


Schéma relationnel de la base de données des collectes de 2003 et 2004.

A2.III. Variables potentiellement explicatives

Liste des variables pour l'analyse de l'abondance des nymphes *Ixodes ricinus* sur les pâtures.

La description des variables correspond à celles disponibles pour l'analyse des données de 2003. Des modifications ont pu être apportées dans la façon de recueillir ces variables en 2004 ou 2006 (acronymes suivis d'un astérisque).

Entre parenthèses : variables non utilisées dans l'analyse statistique.

En gras : variables retenues dans le modèle final appliqué aux données 2003.

§ : variables non disponibles en 2004 ou 2006 pour l'ensemble des pâtures.

* : variables redéfinies en 2004 et 2006.

Variables caractérisant la pâture	
prio	N° d'identification de la pâture.
pcrA [§]	Sol de la pâture : fraction d'argile (‰).
pcrLf [§]	Sol de la pâture : fraction de limon fin (‰).
pcrLg [§]	Sol de la pâture : fraction de limon grossier (‰).
pcrSf [§]	Sol de la pâture : fraction de sable fin (‰).
pcrSg [§]	Sol de la pâture : fraction de sable grossier (‰).
carbone [§]	Sol de la pâture : quantité de carbone (g/kg).
azote [§]	Sol de la pâture : quantité d'azote (g/kg).
rCN [§]	Sol de la pâture : rapport carbone / azote (%).
pH [§]	Sol de la pâture : pH de l'eau.
taille	Taille de la pâture en hectare estimée par l'éleveur (ha).
peri	Périmètre estimé de la pâture (m).
ori [§]	Orientation de la pâture (°).
lati	Latitude de la pâture relevée au GPS (degré décimaux).
longi	Longitude de la pâture relevée au GPS (degré décimaux).
alti	Altitude de la pâture relevée au GPS (m).
pente	Pente de la pâture estimée sur le terrain (1=pas de pente, 2=pente faible, 3=pente moyenne, 4=pente forte, 5=terrain vallonné).
(race)	Race dominante des génisses de la pâture (non discriminant, la plupart étant des charolaises).
nbbov02*	Nombre total de bovins sur la pâture en 2002.

Liste des variables pour l'analyse de l'abondance des nymphes *Ixodes ricinus* sur les pâtures (suite).

nbbov03*	Nombre total de bovins sur la pâture en 2003 (manque une donnée).
humide [§]	Humidité de la pâture estimée par éleveur (1=très humide, 2=assez humide, 3=assez peu humide, 4=très peu humide, 5=ne sait pas).
brpres [§]	Y a-t-il des broussailles dans la pâture? (oui/non)
brsurf [§]	Pourcentage de la surface de la pâture avec des broussailles (%).
(brsp) [§]	Espèces de broussailles dans la pâture (champ texte inexploitable).
arbpres [§]	Y a-t-il des arbres dans la pâture ? (oui/non)
arbsurf [§]	Pourcentage de la pâture avec des arbres (%).
(arbtype) [§]	Type des arbres présents dans la pâture (champ texte inexploitable).
(arbtypenw) [§]	Type des arbres présents dans la pâture. Ce champ a été reformulé à partir du précédent, il n'est pas discriminant, les arbres à l'intérieur des pâture étant des feuillus.
(boispres1) [§]	Voit-on des bois (plusieurs rangées d'arbres) à l'extérieur de la pâture ? (oui/non) Ce champ n'est pas discriminant, la réponse étant presque toujours « oui ».
boisdist	Distance du bois le plus proche de la pâture à 50 m près (m).
(boistype)*	Type du bois le plus proche (champ texte inexploitable).
boistypenw	Type du bois le plus proche (champ reformulé à partir du précédent et à l'aide des agents de terrain : 1=feuillu, 2=conifère, 3=mixte)..
eaupres1	Présence d'eau sur la pâture (oui/non).
eaupres2	Présence d'eau à moins de 3 m du bord de la pâture (oui/non).
ruiss	Présence d'un cours d'eau dans la pâture: rivière, ruisseau, etc. (oui/non).
mare	Présence d'une marre dans la pâture (oui/non).
marec	Présence de terrain marécageux dans la pâture (oui/non).
atreau	Présence d'un autre type d'eau sur la pâture (oui/non).
datearriv	Date d'arrivée des animaux sur la pâture.
(datedep)	Date de départ des animaux de la pâture (champ généralement non renseigné).
route [§]	Distance à la route goudronnée la plus proche (m).
habit [§]	Distance à l'habitation à plus proche (m).
boispres2	Y a-t-il un bois directement adjacent à la pâture (oui/non). Cette donnée binaire est également contenue dans « boisdist ».

Liste des variables pour l'analyse de l'abondance des nymphes *Ixodes ricinus* sur les pâtures (suite).

(ecart) [§]	Densité d'arbres du bois le plus proche (espacement moyen des 5 arbres les plus proches d'un arbre de diamètre minimum égal à 7 cm, champ renseigné pour 30 sites seulement).
starbor	% du périmètre de la pâture présentant une strate arborescente (arbres de plus de 7cm de diamètre).
starbust	% du périmètre de la pâture présentant une strate arbustive (arbres de moins de 7cm de diamètre).
(gibier) [§]	Passage de gibier (oui/non). Données inexploitable.
(anim) [§]	Preuves de la présence d'animaux autres que les bovins (oui/non). Données inexploitable.
(descanim) [§]	Description de l'autre animal (empreinte, déjection, poils, reste de nourriture). Données inexploitable.
(terrier) [§]	Présence de terrier (oui/non). Données inexploitable.
(taupi) [§]	Présence de taupinière (oui/non). Données inexploitable.
c1kp [§]	Périmètre des surfaces boisées en conifères à l'intérieur d'un cercle de 1km de rayon autour de la pâture (m).
c1ks [§]	Surface boisées en conifères à l'intérieur d'un cercle de 1 km de rayon autour de la pâture (m ²).
c1kr [§]	Rapport périmètre sur surface (m ⁻¹).
f1kp [§]	Périmètre des surfaces boisées en feuillus à l'intérieur d'un cercle de 1km de rayon autour de la pâture (m).
f1ks [§]	Surfaces boisées en feuillus à l'intérieur d'un cercle de 1 km de rayon autour de la pâture (m ²).
f1kr [§]	Rapport périmètre sur surface (m ⁻¹).
m1kp [§]	Périmètre des surfaces boisées mixtes à l'intérieur d'un cercle de 1km de rayon autour de la pâture (m).
m1ks [§]	Surfaces boisées mixtes à l'intérieur d'un cercle de 1 km de rayon autour de la pâture (m ²).
m1kr [§]	Rapport périmètre sur surface (m ⁻¹).
c2knb [§]	Nb d'entités boisées en conifères à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon autour de la pâture.
c2ks [§]	Surface des entités boisées en conifères à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon autour de la pâture (m ²).
c2kp [§]	Périmètre des entités boisées en conifères à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon autour de la pâture (m).
f2knb [§]	Nb d'entités boisées en feuillus à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon autour de la pâture.

Liste des variables pour l'analyse de l'abondance des nymphes *Ixodes ricinus* sur les pâtures (suite).

f2ks [§]	Surface des entités boisées en feuillus à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon autour de la pâture (m ²).
f2kp [§]	Périmètre des entités boisées en feuillus à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon autour de la pâture (m).
m2knb [§]	Nb d'entités boisées mixtes à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon autour de la pâture.
m2ks [§]	Surface des entités boisées mixtes à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon autour de la pâture (m ²).
m2kp [§]	Périmètre des entités boisées mixtes à l'intérieur d'un cercle de 2 km de rayon autour de la pâture (m).
t_arbor_type	Espèces végétales arborescentes rencontrées sur le périmètre de la pâture. Les espèces conservées dans le modèle sont pommiers (<i>Malus sp.</i>) et cerisiers (<i>Prunus cerasus</i> ou <i>P. avium</i>) .
t_arbust_type	Espèces végétales arbustives rencontrées sur le périmètre de la pâture.
t_herb_type [§]	Espèces végétales herbacées rencontrées sur le périmètre de la pâture.
t_lian_type [§]	Espèces végétales lianisantes rencontrées sur le périmètre de la pâture.
t_mus_type [§]	Espèces végétales muscinales rencontrées sur le périmètre de la pâture.
sanglier0304 [§]	Tableau de chasse des sangliers de la saison 2003-2004 de la commune où se situe la pâture (nb de réalisations). Données sur 59 sites.
chevreuil0304 [§]	Tableau de chasse des chevreuils de la saison 2003-2004 de la commune où se situe la pâture (nb de réalisations). Données sur 59 sites.
Variables caractérisant la date de collecte	
t_min	Température minimum du jour de collecte (°C).
t_max	Température maximum du jour de collecte (°C).
t_moy	Température moyenne du jour de collecte (°C).
t_moy_25_mo	Moyenne des températures moyennes sur 25 jours avant la collecte (°C).
t_moy_10_mo	Moyenne des températures moyennes sur 10 jours avant la collecte (°C).
t_moy_5_mo	Moyenne des températures moyennes sur 5 jours avant la collecte (°C).
t_moy_5_8_mo	Moyenne des températures moyennes sur les 5, 6, 7 et 8 ^{ème} jours avant la collecte (°C).
t_moy_25_min	Moyenne des températures minimales sur 25 jours avant la collecte (°C).
t_moy_10_min	Moyenne des températures minimales sur 10 jours avant la collecte (°C).
t_moy_5_min	Moyenne des températures minimales sur 5 jours avant la collecte (°C).

Liste des variables pour l'analyse de l'abondance des nymphes *Ixodes ricinus* sur les pâtures (suite).

t_moy_5_8_min	Moyenne des températures minimales sur les 5, 6, 7 et 8 ^{ème} jours avant la collecte (°C).
t_moy_25_max	Moyenne des températures maximales sur 25 jours avant la collecte (°C).
t_moy_10_max	Moyenne des températures maximales sur 10 jours avant la collecte (°C).
t_moy_5_max	Moyenne des températures maximales sur 5 jours avant la collecte (°C).
t_moy_5_8_max	Moyenne des températures maximales sur les 5, 6, 7 et 8 ^{ème} jours avant la collecte (°C).
h_min	Hygrométrie minimale du jour (%).
h_max	Hygrométrie maximale du jour (%).
h_moy	Hygrométrie moyenne du jour (%).
precip	Précipitations du jour de la collecte (mm).
precip_1	Précipitations de la veille (mm).
h_moy_25_moy	Moyenne des hygrométries moyennes sur 25 jours avant la collecte (%).
h_moy_10_moy	Moyenne des hygrométries moyennes sur 10 jours avant la collecte (%).
h_moy_5_moy	Moyenne des hygrométries moyennes sur 5 jours avant la collecte (%).
h_moy_5_8_moy	Moyenne des hygrométries moyennes sur les 5, 6, 7 et 8 ^{ème} jours avant la collecte (%).
h_moy_25_min	Moyenne des hygrométries minimales sur 25 jours avant la collecte (%).
h_moy_10_min	Moyenne des hygrométries minimales sur 10 jours avant la collecte (%).
h_moy_5_min	Moyenne des hygrométries minimales sur 5 jours avant la collecte (%).
h_moy_5_8_min	Moyenne des hygrométries minimales sur les 5, 6, 7 et 8 ^{ème} jours avant la collecte (%).
h_moy_25_max	Moyenne des hygrométries maximales sur 25 jours avant la collecte (%).
h_moy_10_max	Moyenne des hygrométries maximales sur 10 jours avant la collecte (%).
h_moy_5_max	Moyenne des hygrométries maximales sur 5 jours avant la collecte (%).
h_moy_5_8_max	Moyenne des hygrométries maximales sur les 5, 6, 7 et 8 ^{ème} jours avant la collecte (%).
t_acc_10_mo	Accroissement de la température moyenne sur les 10 jours avant la collecte (%).
t_min_max	Amplitude de la température moyenne sur les 10 jours avant la collecte (°C).
daterec	Date de la collecte des tiques.
hdeb	Heure de début de la collecte des tiques.

Liste des variables pour l'analyse de l'abondance des nymphes *Ixodes ricinus* sur les pâtures (suite).

hfin	Heure de fin de la collecte des tiques.
nuage	Couverture nuage (8 ^{èmes}).
temp	Température prise au sol avec un des thermomètres-hygromètres de l'unité (°C).
hygro	Hygrométrie prise au sol avec un des thermomètres-hygromètres de l'unité (%).
nbbovi6m	Nb bovins inférieurs à 6 mois sur la pâture.
nbbovs6m	Nb bovins supérieurs à 6 mois sur la pâture.
(autre_sp)	Présence d'autres espèces d'animaux domestiques sur la pâture (oui/non, aucune autre espèce n'a été citée).
(autre_spid)	Identité des autres espèces sur la pâture (champ vide).
Variables caractérisant la tranche	
trid	N° d'identification de la tranche.
nom_preleveur	Nom du préleveur (celui qui passe le drap).
num_preleveur	N° de la tranche du préleveur.
haut_herbe*	Hauteur d'herbe de la tranche (1= ≤1 cm, 2= entre 1 et 3 cm, 3= entre 3 et 5 cm, 4= entre 5 et 10 cm, 5= > 10 cm).
bord_tranche*	Ce qu'il y a au bord de la tranche (1=clôture-mur, 2=broussailles, 3=arbres).
cote_tranche*	Ce qu'il y a de l'autre côté de la clôture (1=route-chemin-bâtiment-rivière, 2=culture, 3=pâture, 4=broussailles, 5=arbres).
bois_prox	Présence de bois à moins de 20 m de la tranche (oui/non).
trixric_ny	Nb de nymphes <i>Ixodes ricinus</i> sur la tranche.
(trixric_adm)	Nb d'adultes mâles <i>Ixodes ricinus</i> sur la tranche.
(trixric_adf)	Nb d'adultes femelles <i>Ixodes ricinus</i> sur la tranche.
(trderet_pres)	Présence de <i>Dermacentor reticulatus</i> sur la tranche (oui/non).
(trderet_ny)	Nb de nymphes <i>Dermacentor reticulatus</i> sur la tranche.
(trderet_adm)	Nb d'adultes mâles <i>Dermacentor reticulatus</i> sur la tranche.
(trderet_adf)	Nb d'adultes femelles <i>Dermacentor reticulatus</i> sur la tranche.
(trhapun_pres)	Présence d' <i>Haemaphysalis punctata</i> sur la tranche (oui/non).
(trhapun_ny)	Nb de nymphes <i>Haemaphysalis punctata</i> sur la tranche.
(trhapun_adm)	Nb d'adultes mâles <i>Haemaphysalis punctata</i> sur la tranche.
(trhapun_adf)	Nb d'adultes femelles <i>Haemaphysalis punctata</i> sur la tranche.

Liste des variables pour l'analyse de l'abondance des nymphes *Ixodes ricinus* sur les pâtures (suite).

(trautretic_prest)	Présence d'autres tiques sur la tranche (oui/non).
(trautretic1_esp)	Nom de l'espèce 1 des autres tiques.
(trautretic1_ny)	Nb de nymphes de l'espèce 1 sur la tranche.
(trautretic1_adm)	Nb d'adultes mâles de l'espèce 1 sur la tranche.
(trautretic1_adf)	Nb d'adultes femelles de l'espèce 1 sur la tranche.
(trautretic2_esp)	Nom de l'espèce 2 des autres tiques.
(trautretic2_ny)	Nb de nymphes de l'espèce 2 sur la tranche.
(trautretic2_adm)	Nb d'adultes mâles de l'espèce 2 sur la tranche.
(trautretic2_adf)	Nb d'adultes femelles de l'espèce 2 sur la tranche.
(trarthrop_prest)	Présence d'autres arthropodes sur la tranche (oui/ non).
(trarthrop1_esp)	Nom de l'espèce 1 d'arthropodes.
(trarthrop1_nb)	Nb d'individus de l'espèce 1 d'arthropodes.
(trarthrop2_esp)	Nom de l'espèce 2 d'arthropodes.
(trarthrop2_nb)	Nb d'individus de l'espèce 2 d'arthropodes.
(trarthrop3_esp)	Nom de l'espèce 3 d'arthropodes.
(trarthrop3_nb)	Nb d'individus de l'espèce 3 d'arthropodes.

Variables caractérisant le bois le plus proche de la pâture

prio	N° d'identification du bois correspond à celui de la pâture.
(bpcrA) [§]	Sol du bois : fraction d'argile (%).
(bpcrLf) [§]	Sol du bois : fraction de limon fin (%).
(bpcrLg) [§]	Sol du bois : fraction de limon grossier (%).
(bpcrSf) [§]	Sol du bois : fraction de sable fin (%).
(bpcrSg) [§]	Sol du bois : fraction de sable grossier (%).
(bcarbone) [§]	Sol du bois : quantité de carbone (g/kg).
(bazote) [§]	Sol du bois : quantité d'azote (g/kg).
(bpH) [§]	Sol du bois : pH de l'eau.
(btemp)	Température du bois prise avec le thermomètre-hygromètre de l'unité (°C, données incomplètes).

Liste des variables pour l'analyse de l'abondance des nymphes *Ixodes ricinus* sur les pâtures (suite).

(bhygro)	Hygrométrie du bois prise avec le thermomètre-hygromètre de l'unité (% , données incomplètes).
(blati)	Latitude du bois relevée au GPS (degré décimaux).
(blongi)	Longitude du bois relevée au GPS (degré décimaux).
(balti)	Altitude du bois relevée au GPS (m).
(bobstacle)*	Description de ce qu'il y a entre la parcelle et le bois: exemple: pâture, route, eau, etc. (Champ texte inexploitable tel quel).
bdistgps	Distance entre les points GPS du bois et de la pâture (m).
bdistcat*	Catégorie de descriptif entre bois et parcelle (0=adjacent, 1=proche-chemin-route, 2=pâture-culture, 3=éloigné).
(bmus) [§]	Strate muscinale du bois (champ texte, non exploitable).
(bherb)	Strate herbacée de 10 cm à 1 m (champ texte, non exploitable).
(barbus)*	Strate arbustive de 1 à 10 m (champ texte, non exploitable).
(barbuspres)	Présence d'une strate arbustive (oui/non, champ reformulé à partir du précédent).
(barbor)	Strate arborescente >10 m (champ texte, non exploitable).
(btype)	Type de bois (champ reformulé à partir des 2 précédents : 1=conifère, 2=feuillu ou 3=mixte).
birny03	Nb de nymphes <i>Ixodes ricinus</i> dans le bois (total des 10 tranches).
(biradm03)	Nb d'adultes mâles <i>Ixodes ricinus</i> dans le bois (total des 10 tranches).
(biradf03)	Nb d'adultes femelles <i>Ixodes ricinus</i> dans le bois (total des 10 tranches).

Annexe 3 : Données 2005

A3.I. Acquisition des données

Tous les mois, en 2005, nous sommes partis à l'assaut des quatre pâtures des Combrailles de Dontreix, Marcillat, Bussières et Le Quartier.

Arrivés sur les sites pour les collectes de tiques, nous remplissions des formulaires dont la partie supérieure était réservée aux informations concernant la pâture en général. Chaque ligne du tableau de la partie centrale correspondait à une tranche. Par ailleurs, sur la partie basse et à gauche du formulaire, se trouvaient les principales instructions de remplissage.

Pour chaque journée de piégeage, nous avons également un tableau à remplir, dont chaque ligne représentait un piège. Nous notions l'état du piège, l'espèce du micromammifère capturé et les prélèvements effectués le cas échéant. Enfin, lors de leur autopsie, les caractéristiques des micromammifères étaient relevées.

A3.II. Stockage des données

Le stockage des données a été réalisé selon les modalités décrites au paragraphe A2.II.

INRA-EpiTiq
Combrailles - 2005
P. 1/2

FICHE 1 DE RELEVÉS DE CAPTURE DE MICROMAMMIFÈRES

Date: _____ / _____ / 2005

Session: _____

Personnes: _____

Observations: _____

Jour: _____

Site: _____

N° pièg	Plein			N°Mic			Sp	Rem	Sang	nom
	J	Se	Si	J	Se	Si				
P01A										
P01B										
P02A										
P02B										
P03A										
P03B										
P04A										
P04B										
P05A										
P05B										
P06A										
P06B										
P07A										
P07B										
P08A										
P08B										
P09A										
P09B										
P10A										
P10B										
P11A										
P11B										
P12A										
P12B										
P13A										
P13B										
P14A										
P14B										
P15A										
P15B										

N° pièg	Plein			N°Mic			Sp	Rem	Sang	nom
	J	Se	Si	J	Se	Si				
P16A										
P16B										
P17A										
P17B										
P18A										
P18B										
P19A										
P19B										
P20A										
P20B										
P21A										
P21B										
P22A										
P22B										
P23A										
P23B										
P24A										
P24B										
P25A										
P25B										
P26A										
P26B										
P27A										
P27B										
P28A										
P28B										
P29A										
P29B										
P30A										
P30B										

N° pièg	Plein			N°Mic			Sp	Rem	Sang	nom
	J	Se	Si	J	Se	Si				
P31A										
P31B										
P32A										
P32B										
P33A										
P33B										
P34A										
P34B										
P35A										
P35B										
P36A										
P36B										
P37A										
P37B										
P38A										
P38B										
P39A										
P39B										
P40A										
P40B										
P41A										
P41B										
P42A										
P42B										
P43A										
P43B										
P44A										
P44B										
P45A										
P45B										

Plein 1= capture, 0= vide

Sp As : *Apodemus sylvaticus* (Mulot sylvestre)
 Cs : *Crocidura suaveolens* (Musaraigne-crociure des jardins)
 Af : *Apodemus flavicollis* (Mulot à collier)

Rem F = piège fermé sans capture
 M = animal mort dans le piège
 R= piège renversé

Sang 0 = pas de prélèvement réussi
 R = Rétro-orbitaire
 I = Intracardiaque
 nom Initiales du préleveur

N°Mic J= n° jour, Se= Lettre session, Si= n° site, Or= n° d'ordre de capture dans J Se Si
 Cg : *Clethrionomys glareolus* (Campagnol roussâtre)
 Ma : *Microtus arvalis* (Campagnol des champs)
 At : *Anicola terrestris* (Campagnol terrestre)

ES = Echappé à la Sortie du piège
EP = Echappé après le Prélèvement

Formulaire de terrain de piégeage des micromammifères.

A3.III. Variables

Liste des variables utilisées dans l'analyse du rôle des micromammifères dans la répartition des tiques *I. ricinus* à l'interface bois-pâture.

* La définition des classes est réalisée par un découpage en quartiles où on regroupe les deux quartiles moyens.

** La définition des classes est réalisée par un découpage selon la médiane.

Identifiants et repérage:	
micid	Identifiant des micromammifères triés par session, site, journée et micid.
micpiege	N° du piège
Variable à expliquer	
micirla	Nb de larves <i>Ixodes ricinus</i> transportées.
Autres variables d'intérêt	
micir	Nb de tiques <i>Ixodes ricinus</i> transportées quelle que soit la stase.
micirny	Nb de nymphes <i>Ixodes ricinus</i> transportées.
micirm	Nb de mâles <i>Ixodes ricinus</i> transportées.
micirf	Nb de femelles <i>Ixodes ricinus</i> transportées.
Variables explicatives	
Période de piégeage	
micsession	Session de piégeage (3 classes).
Milieus	
micsite	N° du site (4 classes).
micmiltype	Type de milieu (4 classes: PA = Pâture, B = Bois, CH = Chemin, BR = Broussailles).
micemp	Emplacement du piège (4 classes: CINT = contour intérieur, CEXT = contour extérieur, B = au milieu du bois, PA = au milieu d'une pâture)
micherbe	Hauteur de la strate herbacée (4 classes: 0 = pas de strate herbacée, 0-10 = 0 à 10 cm, 10-30 = 10 à 30 cm, >30 = + de 30 cm).
micveget	Type de végétation dans laquelle est placé le piège (3 classes: HERBE = herbacée, HAIE = haie, ligneux de moins de 10m, SBOIS = sous-bois)**.*.
micconnect	Connection du piège au bois (3 classes: AUCUNE, INDIRECTE = le piège est dans une haie connectée au bois, DIRECTE = le piège est dans le bois ou en lisière.)
micveget2	Type de végétation dans laquelle est placé le piège (4 classes: HERBE = herbacée, HPAT = haie entre 2 pâtures, HBOIS = haie entre une pâture et un bois, SBOIS = sous-bois).

Liste des variables utilisées dans l'analyse du rôle des micromammifères dans la répartition des tiques *I. ricinus* à l'interface bois-pâturage (suite).

micsp	Espèce du micromammifère (6 classes).
LI1	Axe 1 de l'acm. (3 classes: -, 0 et +).
LI2	Axe 1 de l'acm. (3 classes: -, 0 et +).
Richesse du milieu en micromammifères	
micmicnb	Présence d'autre(s) capture(s) dans le piège (TRUE/FALSE).
micmicnb2	Présence d'autre(s) capture(s) dans le piège (0, 1, >1).
Système immunitaire	
Présence de défenses	
micrate	Indice du poids de la rate issu d'une régression linéaire en fonction de l'espèce, du sexe et de la longueur du corps (3 classes*: RATE-, RATE0, RATE+).
Endoparasites	
micver	Présence de ver(s) dans le tube digestif de l'animal (TRUE/FALSE).
mickyh	Présence de kyste(s) hépatique(s) (TRUE/FALSE).
Ectoparasites autres que des tiques	
micaca	Présence d'acariens autres que des tiques (TRUE/FALSE).
micobl	Présence d'œufs blancs (TRUE/FALSE).
micpuce	Présence de puce(s) (TRUE/FALSE).
Tiques transportées autres qu' <i>Ixodes ricinus</i>	
micia	Présence d' <i>Ixodes acuminatus</i> (TRUE/FALSE).
micit	Présence d' <i>Ixodes trianguliceps</i> (TRUE/FALSE).
micisp	Présence d'autre(s) <i>Ixodes</i> (TRUE/FALSE).
micdsp	Présence de <i>Dermacentor</i> (TRUE/FALSE).
micnonir	Présence de tiques autres qu' <i>Ixodes ricinus</i> (TRUE/FALSE).
Présence de tiques au sol	
mictrla5m	Présence de larves sur la tranche aux mois de mai, juin, juillet, août ou septembre (TRUE/FALSE).
mictrny5m	Nb de nymphes sur la tranche, somme sur mai, juin, juillet, août, septembre (3 classes: 0, de 1 à 9, + de 9).
mictrad5m	Présence d'adultes sur la tranche aux mois de mai, juin, juillet, août ou septembre (TRUE/FALSE).
Attrait des tiques	
micmort	L'animal est-il trouvé mort dans le piège? (TRUE/FALSE).
Variables morphologiques	

Liste des variables utilisées dans l'analyse du rôle des micromammifères dans la répartition des tiques *I. ricinus* à l'interface bois-pâture (suite).

micrist	Poids du cristallin centré et réduit par espèce et par sexe (3 classes*: CRIST-, CRIST0, CRIST+).
micpds	Poids du corps centré et réduit par espèce et par sexe (3 classes*: PDS-, PDS0, PDS+).
miclgc	Longueur du corps centré et réduit par espèce et par sexe (3 classes*: LGC-, LGC0, LGC+).
Caractéristiques sexuelles	
micsx	Sexe du micromammifère (M/F).
miclgyvs	Longueur de la vésicule séminale centrée et réduite par espèce (3 classes**: FEM = femelle, VS-, VS+).
micgddt	Grand diamètre testiculaire centré et réduit par espèce (3 classes**: FEM = femelle, DT-, DT+).
micgraveide	La femelle est-elle gravide? (3 classes: MALE = mâle, GRAVIDE = oui, NONGRAVIDE = non).
micallait	La femelle est-elle allaitante? (3 classes: MALE = mâle, ALLAIT = oui, NONALLAIT = non).
Autres variables	
micage	Catégorie d'âge de micromammifère (3 classes: JUV = juvénile, ADULTE = adulte, MUSAR = musaraigne). Cette variable est fabriquée à partir des poids des cristallins représentés en pyramides des âges.
micactsx	Activité sexuelle du micromammifère (4 classes: DT+, DT-, NONGRAVIDE, GRAVIDE)
Variabes météorologiques	
micTmin	Minimum des températures sur les 2 jours chevauchant la nuit de piégeage (en °C).
micTmax	Maximum des températures sur les 2 jours chevauchant la nuit de piégeage (en °C).
micRHmin	Minimum de l'hygrométrie sur les 2 jours chevauchant la nuit de piégeage (en %).
micRHmax	Maximum de l'hygrométrie sur les 2 jours chevauchant la nuit de piégeage (en %).
micSDmin	Minimum du déficit de saturation: $(1-Rh_{max}) * 4.9463 * \exp(0.0621 * T_{min})$.
micSDmax	Maximum du déficit de saturation: $(1-Rh_{min}) * 4.9463 * \exp(0.0621 * T_{max})$.

Annexe 4 : Code « R »

L'ensemble des codes « R » utilisés sont disponibles sur demande.

Signification des couleurs :

- Bleu : mots réservés
- Jaune : fonctions
- Turquoise : constantes
- Rose : citations
- Rouge : crochets
- Vert : commentaires

A4.I. Choix de la loi de distribution

```
#####
#####
##### Analyse des densités de nymphes Ixodes ricinus collectées en 2003 #####
##### sur des placettes de 10m? #####
##### Comparaison des lois de Poisson, NB, ZIP et ZINB. #####
#####
# Nettoyage
rm(list=ls())

# Librairies utilisées
library(RODBC) # Permet la connection à la base de données
library(rmutil) # Auteur J.K. Lindsey
library(gnlm) # Auteur J.K. Lindsey, permet l'ajustement par équation de régression.
library(dispmod) # Utile pour calculer les valeurs initiales de la binomiale négative.

# Fonctions utilitaires
setwd( "C:/Documents and Settings/Cartographie/Cartographie/Chloe/Dossier R/Analyse
2003/32_RegPois/4 lois" )
source( "zipmixmodif.txt" )
source( "fmix.txt" )

# Chargement du tableau de données tb4lois
setwd( "C:/Documents and Settings/Cartographie/Cartographie/Chloe/Dossier R/Analyse
2003/32_RegPois/4 lois/Donnees" )
load( "tb4lois.Rdata" )

# Variable à expliquer:
tique = tb4lois$irny
# Covariables:
bord = tb4lois$bord # ce qu'il y a au bord de la tranche
cote = tb4lois$cote # ce qu'il y a juste de l'autre côté de la clôture
boisadj = tb4lois$boisadj # distance bois-pâture < 20 m
birny = tb4lois$birny # nb de nymphe Ir dans le bois le plus proche
cerise = tb4lois$cerise # présence de cerisiers sur le périmètre
pomme = tb4lois$pomme # présence de pommiers sur le périmètre
hyg = tb4lois$hyg # hygrométrie minimum sur 10j
starbor = tb4lois$starbor # % du périmètre avec une strate arborescente
trbois = tb4lois$trbois # distance bois-tranche < 20 m
ortie = tb4lois$ortie # présence d'orties sur le périmètre
viorne = tb4lois$viorne # présence de viorne sur le périmètre
```

```

#####
##### Ajustement d'une loi de Poisson #####

# Formule de référence pour les modèle de Poisson et négative binomiale:
fdistri = ~ bord + cote + boisadj + birny + cerise + pomme + hyg + starbor + trbois + ortie
+ viorne + hyg:starbor
# Les facteurs doivent être mis sous forme disjonctive:
matdistri = model.matrix( fdistri )
qinterpdistri = qinter( fdistri )
fmldistri = qinterpdistri$fml # Formule complètement "déroulée".
mddistri = qinterpdistri$md
attach( mddistri )

inip = glm(tique ~ bord + cote + boisadj + birny + cerise + pomme + hyg + starbor + trbois
+ ortie + viorne + hyg:starbor, family=poisson) # Recherche des valeurs initiales pour les
équations de régression.
nbcoef = length( inip$coef )
inipcoef = rnorm( nbcoef, inip$coef, 0.01) # Les valeurs initiales subissent une légère
altération pour gnlr converge.
# --> Déviance = 6060 pour 1075 ddl. Sous un chi² à 95% on devrait avoir au max une
déviance de 1141.

poisson1 = gnlr( tique,distribution="Poisson", mu=~exp(linear),linear=fmldistri,
pmu=(inipcoef), iterlim=200 )

# Vérifier la convergence
poisson1      # OK

# Comparaison des coefficients calculés par glm et gnlr
as.numeric(inip$coef) # glm
inipcoef # glm + rnorm(0,0.01)
poisson1$coef # gnlr

# Fréquences attendues
pois1.lambda = fitted.values( poisson1, type = "response" )
freqpois1=frequences.base(tique,pois1.lambda,"poisson")

#####
##### Ajustement d'une loi négative binomiale #####

# Recherche des valeurs initiales pour gnlr
ininb = glm.poisson.disp(inip, maxit = 100 )
nbcoef = length( ininb$coef )
ininbcoef = rnorm( nbcoef, ininb$coef, 0.01)
ininbshape = log(ininb$dispersion)

nbl = gnlr( tique,distribution="negative binomial", mu=~exp(linear), linear=fmldistri,
pmu=(ininbcoef), pshape = ininbshape, iterlim=200 )

# Vérifier la convergence
nbl      # OK

# Comparaison des coefficients calculés par glm et gnlr
as.numeric(ininb$coef) # glm
ininbcoef # glm + rnorm(0,0.01)
nbl$coef # gnlr; Le dernier coefficient correspond au paramètre de dispersion.
ininbshape # Paramètre de dispersion donné par glm.poisson.disp

# Comparaison des valeurs prédites
nbl.mu = fitted.values( nbl, type = "response" )
ininb.mu = fitted.values( ininb, type = "response" )
nbl.mu[1:10]
ininb.mu[1:10]

# Fréquences attendues
nbl.mu = fitted.values( nbl, type = "response" )
nbl.size = exp( nbl$coef[length(nbl$coef)] )
nbl.prob = nbl.size/( nbl.mu + nbl.size )
freqnbl = frequences.base( tique, nbl.prob, "negative binomial", nbl.size )

#####
##### Terms to be used in zip and zinb models #####

# bord + cote + boisadj + birny + cerise + pomme + hyg + starbor + trbois + ortie + viorne
+ hyg:starbor

```

```

fdistri = ~ bord + cote + trbois + birny # Termes jouant sur l'abondance.
fmel = ~ cerise + pomme + hyg + starbor + boisadj + ortie + viorne + hyg:starbor # Termes
jouant sur la présence absence.
matdistri = model.matrix( fdistri )
matmel = model.matrix( fmel )

# On "déroule" les formules:
# Distribution
qinterpdistri = qinterp( fdistri )
fmldistri = qinterpdistri$fml
mddistri = qinterpdistri$md
attach( mddistri )
# Logistique
qinterpmel = qinterp( fmel )
fmlmel = qinterpmel$fml
mdmel = qinterpmel$md
attach( mdmel )

# Recherche des valeurs initiales
# Regression logistique
glmml = glm( (tique!=0) ~ cerise + pomme + hyg + starbor + boisadj + ortie + viorne +
hyg:starbor, family = binomial )
coefmel = glmml$coef

#####
##### ZIP Model #####

# Recherches des valeurs initiales:
x.distri = as.matrix(matdistri[,-1])
x.mel = as.matrix(matmel[,-1])
zipmix1 = zipmixMenu( tique, x.mel, x.distri )
coefdistri = zipmix1$estimate$beta

#Fmr
fmrzip1=fmr( tique, distribution="Poisson", mu=~exp(linear), linear=fmldistri,
pmu=coefdistri, mix=fmlmel, pmix=coefmel, iterlim=200 )

# Vérifier la convergence
fmrzip1

# Fréquences attendues
paramzip1 = param.fmr( fmrzip1$coef, matmel, matdistri, type = "poisson" )
freqzip1 = frequences.fmr( tique, paramzip1$phi, paramzip1$lambda, type = "poisson" )

#####
##### ZINB Model #####

# Recherches des valeurs initiales:
positivepoisson = glm( tique[tique>0] ~ bord[tique>0] + cote[tique>0] + trbois[tique>0] +
birny[tique>0] , family = poisson )
positivedispmod = glm.poisson.disp( positivepoisson )
param.disp = positivedispmod$dispersion
size1 = 1/param.disp
coefbn = size1/(size1+positivedispmod$coef)

# Fmr
fmrzinbl = fmr( tique, distribution="negative binomial", mu=~exp(linear), linear=fmldistri,
pmu=coefbn, mix=fmlmel, pmix=coefmel, pshape=0, iterlim=300 )

# Vérifier la convergence
fmrzinbl

# Fréquences attendues
paramzinbl = param.fmr( fmrzinbl$coef, matmel, matdistri, type = "negative binomial" )
freqzinbl=frequences.fmr( tique, paramzinbl$phi, paramzinbl$prob, type = "negative
binomial", paramzinbl$size )

#####
##### Comparaison des modèles #####

# Frequences
frmod=cbind(freqpois1,freqnb1[,3],freqzip1[,3],freqzinbl[,3])
row.names(frmod) = NULL
colnames(frmod)[3] = "Poisson"
colnames(frmod)[4] = "NB"
colnames(frmod)[5] = "ZIP"
colnames(frmod)[6] = "ZINB"

```

```

frmod

# Tests de Vuong
probpois = propois( tique,fitted.values( poisson1, type = "response" ) )
probnb = pronb( tique,nbl.prob,nbl.size )
probzip = prozip( tique, paramzip1$phi, paramzip1$lambda)
probzinb = prozinb( tique, paramzinb1$phi, paramzinb1$prob, paramzinb1$size)
vuong( probpois, probnb )
vuong( probpois, probzip )
vuong( probpois, probzinb )
vuong( probnb, probzip )
vuong( probnb, probzinb )
vuong( probzip, probzinb )

## Log-likelihood and relative statistics
sum( log(probpois) )
sum( log(probnb) )
sum( log(probzip) )
sum( log(probzinb) )

#--> On choisit la NB.

```

A4.II. Acquisition des données à partir d'Access

```

##### Chargement des données #####

rm(list=ls())

#### Librairies utilisées
library(RODBC) # Lien avec les bases de données

# Connection à la base Tiq_06:
CanalTiq06=odbcConnect(dsn="SourceTiq06",uid="admin",pwd="")
# Récupération des données de la requête "CH_TIQ_TR_PARCELLE":
pat06=sqlFetch(CanalTiq06,"CH_TIQ_TR_PARCELLE")
# Déconnection:
odbcClose(CanalTiq06)

# Résumé des données obtenues:
summary( pat06 )

```

A4.III. Régression binomiale négative appliquée aux données de 2004

```

#####
##### Analyse du nb de nymphes par tranches collectées en 2004 #####
##### Régression binomiale négative méthode glm.nb #####
##### En prenant les variables correspondant à celles significatives en 2003 #####

rm( list=ls() ) # Nettoyage préliminaire

# Chargement du tableau de données
setwd( "C:/Documents and Settings/Cartographie/Cartographie/Chloe/Dossier R/Comparaison
2003 2004 2006/Reg030406/Donnees" )
load("tbTr04.Rdata")

# Chargement des modules pour l'analyse:
library(MASS) # Permet l'accès à la fonction glm.nb

# Chargement des fonctions
source("C:/Documents and Settings/Cartographie/Cartographie/Chloe/Dossier R/Analyse
2003/4_Fonctions R/fmix.txt")

tbdata = tb04

```

```

#####
##### Optimisation de la Binomiale négative ajustée #####
MTr1 = glm.nb( irny ~ bord + cote +
               boisadj + birny +
               cerise + pomme +
               hyg + starbor +
               hyg:starbor,
               data = tldata , maxit=200 )
anova( MTr1 )
# => On enleve pomme.

MTr2 = glm.nb( irny ~ bord + cote +
               boisadj + birny +
               cerise +
               hyg + starbor +
               hyg:starbor,
               data = tldata , maxit=200 )
anova( MTr2 )
# => Modèle optimum d'après l'anova, mais l'intervalle de confiance de boisadj n'est pas
significatif.
# -> j'enlève boisadj

MTr3 = glm.nb( irny ~ bord + cote +
               birny +
               cerise +
               hyg + starbor +
               hyg:starbor,
               data = tldata , maxit=200 )
anova( MTr3 )

# Le modèle final est:
MnyF = MTr3

# MnyF = glm.nb( irny ~ bord , data = tldata , maxit=200 )

#####
##### Loi de Poisson correspondante #####
Pois = glm( irny ~ bord + cote +
            birny +
            cerise +
            hyg + starbor +
            hyg:starbor,
            data = tldata , family = "poisson" )
summary( Pois )
anova( Pois )

#####
##### Test du modèle par rapport à la loi de Poisson #####

# Fréquences attendues de la loi de Poisson
pois.lambda = fitted.values( Pois, type = "response" )
freqpois = frequences.base( tldata$irny, pois.lambda, "poisson" )

# Fréquences attendues de la BN
nb.mu = fitted.values( MnyF, type = "response" )
nb.size = MnyF$theta
nb.prob = nb.size/( nb.mu + nb.size )
freqnb = frequences.base( tldata$irny, nb.prob, "negative binomial", nb.size )

# Frequences
frmod = cbind( freqpois,freqnb[,3] )
row.names(frmod) = NULL
colnames(frmod)[3] = "Poisson"
colnames(frmod)[4] = "NB"
frmod

# Tests de Vuong
probpois = propois( tldata$irny, fitted.values( Pois, type = "response" ) )
probnb = pronb( tldata$irny, nb.prob, nb.size )
cat("\n Test de Vuong : ", vuong( probpois, probnb ), "\n" )

```

```

## Log-likelihood and relative statistics
cat("\n - log( vraisemblance du modèle de Poisson ) : ", sum( log(probpois) ), "\n" )
cat("\n - log( vraisemblance du modèle binomial négatif ) : ", sum( log(probnb) ), "\n" )

cat("\n Paramètre de dispersion du modèle binomial négatif : ", 1/MnyF$theta, "\n" )
par( mfrow = c(2,2), oma = c(0, 0, 2, 0) , ask = T )
plot( MnyF )
plot( Pois )

# Graphe du modèle final

x11()
limite = 12
freq = rbind( frmod[1:limite,], apply( frmod[(limite+1):nrow(frmod),],2,sum ) )
row.names( freq ) = c( 0:(limite-1) , paste("+",limite,sep="" ) )
freq
barplot( t(freq[,c(2,3,4)]), beside = TRUE, col = c("snow","red","orange"),
        ylim = c( 0,max(freq[,c(2:4)]) ),
        xlab="Number of nymphs per ST",
        ylab="Number of ST", space = NULL )
title( main = "Poisson (red) et negative binomial (orange) ajustements\n" )
print("Binomiale négative:")
print( chisq.test( freq[,c(2,4)] ) )
print("Poisson:")
print( chisq.test( freq[,c(2,3)] ) )

### Paramètres du modèle "NB larves"
rate.param = exp( summary(MnyF)$coeff[,1] )
ic95i = exp( summary(MnyF)$coeff[,1] - summary(MnyF)$coeff[,2]*1.96 )
ic95s = exp( summary(MnyF)$coeff[,1] + summary(MnyF)$coeff[,2]*1.96 )
sig = !( 1>ic95i & 1<ic95s )
sens = sign( rate.param-1 )
data.frame( rate.param, ic95i, ic95s , sig, sens )
summary( MnyF )

##### Fin #####

```


Abstract

Environmental factors influencing the variation of *Ixodes ricinus* tick abundance in two model zones in Auvergne (central France)

Enhancing the knowledge and control of risks linked to tick-borne pathogens, in particular to *Ixodes ricinus*-borne, is one of the public health concerns in France. Tick-borne diseases are also an important issue in veterinary medicine, especially for cattle.

In this context, eco-epidemiological studies were conducted in Auvergne by the Animal Epidemiology research unit of the French National Institute for Agricultural Research (INRA), with the support of the “Conseil Régional d’Auvergne”, in two bocage (enclosed pastureland) model zones located in the Combrailles (“département du Puy-de-Dôme”) and the West Cantal (“département du Cantal”) regions.

Since nymphs represent the most important stage for pathogen transmission to humans, environmental factors (weather, landscape, hosts) characterizing *I. ricinus* nymph abundance questing on the vegetation were first studied. Nymphs were drag sampled at the inner perimeter of 61 grazed permanent pastures in 2003 in the Combrailles, and analyzed using a probabilistic modeling approach based on the negative binomial distribution. The reproducibility of the significant factors found in this study was evaluated by testing them with abundance of questing nymphs sampled in different years (2004 and 2006) and location (West Cantal). The main outlined factors, consistent across all studies, were related to the presence of bushes or trees, the presence of woodland and the nymph abundance in the nearest woodland. Thus, we hypothesized that immigration from neighbouring woodland was critical for the maintenance of tick populations on pastures. In a second step, variation factors of *I. ricinus* larva burden on small mammals at the pasture-woodland ecotone were investigated in 2005 thanks to trapping sessions. The wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) appeared to be the main small mammal species able to transport tick larvae between woodlands and pastures and act as an “epidemiological bridge”.

In conclusion, *I. ricinus* tick-bite risk was refined in Auvergne as a first step to assess tick-borne disease risk. The next steps will address: i) the variation of tick infection rate by bacterial pathogens (i.e. *Borrelia burgdorferi* s.l. – Lyme disease agent, *Anaplasma phagocytophilum* – human and animal granulocytic anaplasmosis, and *Rickettsia* spp. of the spotted fever group), and ii) the disease risk factors for the corresponding diseases. Overall, this Ph.D. presented here has fostered methodological and strategic discussions regarding biologic or biostatistic issues.

Key word: *Ixodes ricinus*; abundance factor; woodland/pasture ecotone; small mammal; eco-epidemiology; Auvergne

Facteurs environnementaux de variation de l'abondance des tiques *Ixodes ricinus* dans des zones d'étude modèles en Auvergne

La connaissance et le contrôle des risques liés à la vectorisation d'agents pathogènes par les tiques, en particulier par *Ixodes ricinus*, font partie des priorités de santé publique en France. Les maladies transmises par les tiques sont, en outre, d'actualité en médecine vétérinaire, en particulier chez les bovins.

Dans le cadre des recherches de l'INRA (Unité de Recherche d'Epidémiologie Animale / EPI-A, Centre de recherches de Clermont-Ferrand – Theix), et avec l'appui du Conseil Régional d'Auvergne, des études éco-épidémiologiques ont été conduites en Auvergne, pour préciser les facteurs environnementaux qui influencent l'abondance des nymphes *I. ricinus*, en tant que stase la plus impliquée dans la transmission d'agents pathogènes à l'Homme.

En 2003, dans la région des Combrailles (département du Puy-de-Dôme), les nymphes *I. ricinus* à l'affût sur la végétation ont été collectées par la méthode du drapeau sur le périmètre intérieur de 61 pâtures (prairies permanentes pâturées par les bovins). Leur abondance a été analysée selon une approche probabiliste basée sur la loi binomiale négative. La reproductibilité des facteurs significatifs, révélés par cette première analyse, a été évaluée sur des données d'abondance de nymphes *I. ricinus* collectées à différents moments (2004 et 2006) et dans une zone différente, mais de caractéristiques écologiques semblables, l'Ouest Cantal (département du Cantal). Les principaux facteurs favorisant l'abondance des nymphes *I. ricinus*, constants à travers les différents jeux de données, étaient la présence d'une haie d'arbres ou d'arbustes, la présence de bois, et le nombre de nymphes dans le bois le plus proche des pâtures. Nous avons alors émis l'hypothèse qu'une migration des tiques des bois vers les pâtures est cruciale pour le maintien d'une population de tiques *I. ricinus* sur les pâtures. La variation de l'abondance des larves *I. ricinus* transportées par les micromammifères à l'écotone bois-pâturage a pu être analysée à partir des sessions de piégeages réalisées en 2005. Le mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*) a été identifié comme l'espèce de micromammifères capable de transporter les larves *I. ricinus* entre les bois et les pâtures, et par conséquent apte à jouer le rôle de « pont épidémiologique ».

En conclusion, les conditions du risque de morsure par *I. ricinus* en Auvergne ont été précisées, en tant qu'étape initiale d'évaluation du risque de transmission d'agents pathogènes via cette tique. Les étapes suivantes concerneront l'étude des facteurs de variation du portage bactériens par *I. ricinus* pour *Borrelia burgdorferi* s.l. (agent de la maladie de Lyme), *Anaplasma phagocytophilum* (agent de l'anaplasmose granulocytaire humaine et animale), et des *Rickettsia* spp. du groupe des fièvres boutonneuses, ainsi que l'étude des conditions d'apparition des cas des maladies dépendant de ces agents. Les travaux qui ont été conduits ont permis de proposer à la discussion un ensemble de réflexions méthodologiques et stratégiques, de nature biologique ou biostatistique.

Mots clés : *Ixodes ricinus* ; facteur d'abondance ; écotone bois-pâturage ; micromammifère ; éco-épidémiologie ; Auvergne